สารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากราเอนโดไฟต์ที่แยกจากใบพลูคาว *Houttuynia cordata* Thunb.

นางสาวปพิชญา กองจินดา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-14-2296-2

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ANTIMICROBIAL AGENTS FROM ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATED FROM *Houttuynia cordata* Thunb. LEAVES

Miss. Papitchaya Kongchinda

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2005

ISBN 974-14-2296-2

481582

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากราเอนโดไฟต์ที่แยกจากใบพลูคาว *Houttuynia cordata* Thunb.
โดย	นางสาวปพิชญา กองจินดา
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรชัย พรภคกุล

คณะวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร. โสภณ เริงสำราญ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรชัย พรภคกุล)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ประกิตติ์สิน สีหนนทน์)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. นาตยา งามโรจนวณิชย์)

ปพิชญา กองจินดา: สารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากราเอนโดไฟต์ที่แยกจากใบพลูคาว *Houttuynia cordata* Thunb. (ANTIMICROBIAL AGENTS FROM ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATED FROM *Houttuynia cordata* Thunb. leaves) อ.ที่ปรึกษา: ผศ. ดร. สุรชัย พรภคกุล, 190 หน้า. ISBN 974-14-2296-2

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อแยกหาสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่สร้างโดยราเอนโดไฟต์ที่แยกจากใบพลูคาว *Houttuynia cordata* Thunb. ที่เก็บจาก 4 จังหวัด คือ เชียงใหม่ เชียงราย ราชบุรี และนครปฐม แยกราเอนโดไฟต์ได้ 64 ไอโซเลตโดยวิธีการฆ่าเชื้อที่ผิวนอก ทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Dual culture agar diffusion technique พบว่าราเอนโดไฟต์ 50MLY-5, 57S-8 และ 70CLY-2 มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้อย่างน้อยที่สุด 2 ชนิด โดยราเอนโดไฟต์ 50MLY-5 ที่เจริญบนอาหาร YEA มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ดีที่สุด ในการยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATTC 6633 และ *Escherichia coli* ATCC 25923

โดยอาศัยสัณฐานวิทยาของราและการวิเคราะห์ลำดับ DNA บริเวณ ITS1 ITS2 และ 5.8S ของยีน rRNA ราเอนโดไฟต์ 50MLY-5 จัดเป็น *Alternaria* sp. เพาะเลี้ยงรานี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Yeast Extract Sucrose Broth (YEB) และทดสอบสารเมแทบอไลต์ที่ยับยั้งจุลินทรีย์ จากการแยกส่วนสกัดหยาบเอธิลอะซิเตตของน้ำเลี้ยงและเส้นใยได้สาร 5 ชนิด ประกอบด้วย cyclo(L-Leu-L-Pro), thymine, uracil, ergosterol peroxide และสารใหม่ 1 ชนิด คือ 3-amino-6-(hydroxyamino)piperazine-2,5-dione ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของสารทั้ง 5 ชนิด ด้วยวิธี the minimum inhibitory concentration method (MIC)โดยใช้ penicillin G, sulfadimidine, streptomycin, erythromycin, iprodine และ ketoconazole เป็น positive control พบว่า Cyclo(L-Leu-L-Pro) มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922 และ *C. albicans* ATCC 10231 ได้ที่ค่า MIC 1.96, 62.5 และ 31.25 µg/ml; 3-amino-6-(hydroxyamino)piperazine-2,5-dione มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633 ที่ค่า MIC เท่ากับ 15.63 µg/ml และ *C. albicans* ATCC 10231 ที่ค่า MIC เท่ากับ 1.96 µg/ml และ ergosterol peroxide มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922 และ *C. albicans* ATCC 10231 ได้ที่ค่า MIC 7.82, 31.25 และ 62.5 µg/ ml ตามลำดับ

สาขาวิชา .....เทคโนโลยีชีวภาพ..... ลายมือชื่อนิสิต.....ปพิชญา กองจินดา.....

ปีการศึกษา.....2548…….. ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

4672321023: MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD: ENDOPHYTIC FUNGI / *Houttuynia cordata* Thunb. / ANTIMICROBIAL ACTIVITY/ MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION METHOD

PAPITCHAYA KONGCHINDA: ANTIMICROBIAL AGENTS FROM ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATED FROM *Houttuynia cordata* Thunb. LEAVES. THESIS ADVISOR :ASST. PROF. SURACHAI PORNPAKAKUL, Ph.D., 190 pp. ISBN 974-14-2296-2

The purpose of this research was to investigate extraction antimicrobial agents produced by endophytic fungi which were isolated from *Houttuynia cordata* Thunb. leaves collected from 4 provinces including Chiangmai, Chiangrai, Rachaburi and Nachornpathom. The 64 isolates of endophytic fungi were isolated by surface-sterilization techniques. Fungal isolates were examined antimicrobial activity by dual culture agar diffusion technique. Isolate 50MLY-5, 57S-8 and 70CLY-2 showed antimicrobial activity against at least two tested microorganisms. The 50MLY-5 isolate grown on yeast extract sucrose agar (YEA) exhibited highest antimicrobial activity against *Bacillus subtilis* ATTC 6633 and *Escherichia coli* ATCC 25923.

On bases of fungal morphology and analysis of the DNA sequences of the ITS1, ITS2 and 5.8S region of rRNA gene, the endophytic fungus isolate 50MLY-5 was identified to *Alternaria* sp. This fungus was cultured in YEB and its antimicrobial metabolites were investigated. From isolation of ethyl acetate extract of broth and mycelium, five compounds were obtained including cyclo(L-Leu-L-Pro), thymine, uracil and ergosterol peroxide. Antimicrobial activities of five compounds were determined by the minimum inhibitory concentration method (MIC) method using penicillin G, sulfadimidine, streptomycin, erythromycin, iprodine and ketoconazole as positive control. The results showed that Cyclo(L-Leu-L-Pro) exhibited antimicrobial activity against *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922 and *C. albicans* ATCC 10231 with MIC values of 1.96, 62.5 and 31.25 µg/ml; 3-amino-6-(hydroxyamino)piperazine-2,5-dione exhibited antimicrobial activity against *B. subtilis* ATCC 6633 and *C. albicans* ATCC 10231 with MIC values 15.63 and 1.96 µg/ml and ergosterol peroxide exhibited antimicrobial activity against *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922 and *C. albicans* ATCC 10231 with MIC values of 7.82 , 31.25 and 62.5 µg/ml respectively.

Field of study.....Biotechnology..... Student's signature.....PAPITCHAYA KONGCHINDA

Academic year.....2005..... Advisor's signature.....S. Pornpakakul

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนต้องขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรชัย พรภคกุล อาจารย์ที่ปรึกษา ที่คอยให้คำแนะนำและสั่งสอนให้ได้รับความรู้ต่างๆ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาที่ผู้เขียนได้ศึกษาอยู่และช่วยตรวจและแก้วิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์ดี

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.โสภณ เริงสำราญ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม รองศาสตราจารย์ ดร.ประกิตติ์สิน สีหนนทน์ และ รองศาสตราจารย์ ดร.นาตยา งามโรจนวณิชย์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำแก่ผู้เขียน

ขอขอบคุณ ภาควิชาเคมี หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ และ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาอนุเคราะห์ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณคุณศรีนวล ตันสุวรรณ คุณจรัสลักษณ์ เพชรวัง คุณจันทิมา อุทะกะ คุณสุนิษา สุวรรณเจริญ คุณจำเรียง ธรรมธร คุณสุชน ดีจังวิภาต และคุณจตุพล เหลี่ยงสกุล ที่คอยช่วยเหลือให้คำแนะนำและให้กำลังใจตลอดมา รวมทั้งพี่ๆน้องๆที่หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ และที่หน่วยวิจัยไบโอออร์แกนิกเคมี (Research Centre for Bioorganic Chemistry, RCBC) ทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในเรื่องต่างๆ เป็นอย่างดีตลอดเวลาที่ได้ทำงานวิจัย

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ญาติพี่น้อง และคุณธีระวุฒิ นวลแสงที่ให้ความช่วยเหลือคอยเป็นกำลังใจที่ดีและเป็นแรงผลักดันแก่ผู้เขียนจนสำเร็จการศึกษา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฌ
สารบัญรูป	ฎ
สารบัญแผนภาพ	ฒ
คำย่อ	ณ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 คำจำกัดความของเอนโดไฟต์	4
2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างราเอนโดไฟต์กับพืชในทางนิเวศวิทยา	5
2.3 ความจำเพาะต่อโฮสท์ของเอนโดไฟต์	7
2.4 ความจำเพาะของเอนโดไฟต์ในแง่การสร้างเอนไซม์	7
2.5 การจัดกลุ่มเอนโดไฟต์ในทางนิเวศวิทยา	8
2.6 ประโยชน์ที่พืชได้รับจากราเอนโดไฟต์	8
2.7 สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่ได้จากราเอนโดไฟต์	9
2.8 การศึกษาเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพของราเอนโดไฟต์	19
2.9 พลูคาว	27
2.10 องค์ประกอบทางเคมีของพลูคาว	29
2.11 การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพลูคาว	32
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	35
3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	35
3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	36
3.3 เทคนิคทางโครมาโทกราฟีที่ใช้ในการทดลอง	37
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	37
3.5 การเก็บตัวอย่างใบพลูคาว	37
3.6 การแยกราเอนโดไฟต์	37
3.7 การคัดเลือกราเอนโดไฟต์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์	39

หน้า

3.8 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของราเอนโดไฟต์ 39
3.9 การหาช่วงเวลาต่อการสร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิของราเอนโดไฟต์ 50MLY-5 40
3.10 การสกัดและการแยกสารประกอบของส่วนสกัดที่ได้จากราเอนโดไฟต์ 50MLY-5 41
3.11 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของส่วนสกัดที่ได้จากราเอนโดไฟต์ 50MLY-5 44
3.12 การแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบจากเส้นใยและน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟต์ 50MLY-5 ให้บริสุทธิ์และการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารประกอบ 45
3.13 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของสารประกอบ 48
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง 51
4.1 ราเอนโดไฟต์ที่แยกจากพลูคาว 51
4.2 การคัดเลือกราเอนโดไฟต์ 55
4.3 ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์และการจัดจำแนกราเอนโดไฟต์ 50MLY-5 60
4.4 ผลการศึกษาช่วงเวลาการสร้างสารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของราเอนโดไฟต์ *Alternaria* sp 63
4.5 ผลการสกัดและการแยกสารประกอบของสารสกัดที่ได้จากราเอนโดไฟต์ *Alternaria* sp 67
4.6 ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของส่วนสกัดหยาบที่ได้จากราเอนโดไฟต์ *Alternaria* sp 68
4.7 ผลการแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบการทำให้บริสุทธิ์และสมบัติทางเคมีของสารประกอบที่ได้จากราเอนโดไฟต์ *Alternaria* sp... 73
4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของสารประกอบ 103
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 105
รายการอ้างอิง 106
ภาคผนวก 114
ภาคผนวก ก 115
ภาคผนวก ข 122
ภาคผนวก ค 152
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 190

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 แสดงจำนวนราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากใบพลูคาว..... 51

4.2 ลักษณะของราเอนโดไฟต์จากจังหวัดเชียงใหม่ในอาหารต่างชนิดกัน..... 51

4.3 ลักษณะของราเอนโดไฟต์จากจังหวัดเชียงรายในอาหารต่างชนิดกัน..... 51

4.4 ลักษณะของราเอนโดไฟต์จากจังหวัดราชบุรีในอาหารต่างชนิดกัน..... 51

4.5 ลักษณะของราเอนโดไฟต์จากจังหวัดนครปฐมในอาหารต่างชนิดกัน..... 51

4.6 การจัดจำแนกราเอนโดไฟต์ที่ได้จากพลูคาว..... 52

4.7 แสดงฤทธิ์ของราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ในการยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารต่างชนิดกัน..... 56

4.8 ช่วงเวลาต่อการสร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟต์ *Alternaria* sp. 63

4.9 ลักษณะและปริมาณส่วนสกัดหยาบของราเอนโดไฟต์ *Alternaria* sp ในตัวทำละลายต่างๆ..... 68

4.10 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเส้นใยและน้ำเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟต์ *Alternaria* sp 69

4.11 การแยกส่วนสกัดหยาบแอธิลอะซิเตดจากน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟต์ *Alternaria* sp.. 73

4.12 ตำแหน่งการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารประกอบ **1**..... 75

4.13 แสดงค่า ^{1}H-NMR (δ_H), ^{13}C-NMR (δ_C), gHSQC, gHMBC และ gCOSY ของสารประกอบ **1** 77

4.14 แสดงค่า ^{1}H-NMR (δ_H), ^{13}C-NMR (δ_C) ของสารประกอบ**1** เทียบกับ Cyclo(L-Leu-L-Pro)..... 78

4.15 ตำแหน่งการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารประกอบ **2**..... 83

4.16 แสดงค่า ^{1}H-NMR (δ_H), ^{13}C-NMR (δ_C) ของสารประกอบ**2** เทียบกับ Thymine 84

4.17 ตำแหน่งการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารประกอบ **3**..... 85

4.18 แสดงข้อมูล 1D และ 2D ของสารประกอบ **3**..... 89

ตารางที่ **หน้า**

4.19 ตำแหน่งการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารประกอบ **4**..... 90

4.20 แสดงข้อมูล 1D และ 2D ของสารประกอบ **4**..... 91

4.21 การแยกส่วนสกัดหยาบเอธิลอะซิเตดจากเส้นใยราเอนโดไฟต์ *Alternaria* sp... 93

4.22 ตำแหน่งการดูดกลืนแสงอินฟราเรดของสารประกอบ **5**..... 95

4.23 แสดงข้อมูล 1D และ 2D ของสารประกอบ **5**..... 97

4.24 แสดงค่า ^{1}H-NMR (δ_H), ^{13}C-NMR (δ_C) ของสารบริสุทธิ **5** เทียบกับ Ergosterol peroxide 99

4.25 ค่า MIC ของสารบริสุทธิ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์..... 104

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แสดงสัดส่วนการพบสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิชนิดใหม่จากราเอนโดไฟต์	3
2.2	ความสัมพันธ์ระหว่างราเอนโดไฟต์กับพืช	6
2.3	โครงสร้างทางเคมีของ Peramine	9
2.4	โครงสร้างทางเคมีของChanoclavine	10
2.5	โครงสร้างทางเคมี Agroclavine และ Elymoclavine	11
2.6	โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม aminopyrrolizidine	11
2.7	โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Steroids	12
2.8	โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Sesquiterpenes	12
2.9	โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Diterpenes	13
2.10	โครงสร้างสารในกลุ่ม Isocoumarin derivatives	14
2.11	โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Quinones	14
2.12	โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Flavonoids	15
2.13	โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Phynylpropanoids	15
2.14	โครงสร้างทางเคมีของ lignan	16
2.15	โครงสร้างทางเคมีของ Leucinostatin A	16
2.16	โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Phenol and phenolic acid	17
2.17	โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Aliphatic compounds	17
2.18	โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่ม Chlorinated metabolites	18
2.19	โครงสร้างทางเคมีของ pentaketide	19
2.20	โครงสร้างทางเคมีของ C-methylated acetogenins	19
2.21	Cryptocandin	20
2.22	Jesterone	20
2.23	Taxol	21
2.24	ก. Sequoiatones A และ ข. Sequoiatones B	22
2.25	Torreyanic acid	23
2.26	Fusaricide	23

รูปที่		หน้า
2.27	Cytonic acid A และ B	23
2.28	Subglutinol A	24
2.29	Isopestacin	24
2.30	Leucinostatin A	25
2.31	สารในกลุ่มของ Ergot alkaloid	26
2.32	แสดงลักษณะของพลูคาว	28
2.33	สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารที่พบในน้ำมันหอมระเหยในพลูคาว	29
2.34	สูตรโครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอยด์บางชนิดที่พบในพลูคาว	30
2.35	สูตรโครงสร้างทางเคมีของอัลคาลอยด์บางชนิดที่พบในพลูคาว	30
2.36	สูตรโครงสร้างทางเคมีของกรดไขมันบางชนิดที่พบในพลูคาว	31
2.37	สูตรโครงสร้างทางเคมีของกรดไขมันบางชนิดที่พบในพลูคาว	31
2.38	สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารประเภท polyphenolic acid ที่พบในพลูคาว	32
3.1	วิธีการทำ Slide Culture	40
4.17	แสดงลักษณะของราเอนโดไฟต์ Mycelia sterilia (อายุ 14 วัน) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA	53
4.18	แสดงลักษณะของราเอนโดไฟต์ *Fusarium* sp. (อายุ 14 วัน)ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA	53
4.19	แสดงลักษณะของราเอนโดไฟต์ *Phomopsis* sp. (อายุ 18วัน)ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MEA	54
4.20	แสดงลักษณะของราเอนโดไฟต์ *Nodulisporium* sp. (อายุ 16 วัน)ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA	54
4.21	แสดงลักษณะของราเอนโดไฟต์ *Bipolaris* sp. (อายุ 16 วัน)ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA	55
4.22	แสดงลักษณะของราเอนโดไฟต์ *Alternaria* sp. (อายุ 16 วัน)ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA	55
4.23	แสดงฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบของราเอนโดไฟต์ 50 MLY-5 ในอาหารแข็ง YEA	58
4.24	ภาพแสดงลักษณะโคโลนีของราเอนโดไฟต์ 50MLY-5 (อายุ 14 วัน) ในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งชนิดต่างๆ	61
4.25	ลักษณะสปอร์ของราเอนโดไฟต์ 50 MLY-5	61

รูปที่ หน้า

4.26 แสดงฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำเลี้ยงราราเอนโคไฟต์ *Alternaria* sp. ที่เลี้ยงในอาหารเหลว YEB ในระยะเวลาที่ต่างกัน 65
4.27 แสดงช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการสร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิของราเอนโคไฟต์ *Alternaria* sp. ในการยับยั้งจุลินทรีย์ 66
4.28 ภาพแสดงการเจริญของราเอนโคไฟต์ *Alternaria* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YEB 67
4.29 ภาพแสดงการทดสอบการออกฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของส่วนสกัดหยาบจากราเอนโคไฟต์ *Alternaria* sp. 70
4.30 ภาพแสดงการทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งราที่ก่อโรคพืช *Phytoptera palmivola* ของส่วนสกัดหยาบจากราเอนโคไฟต์ *Alternaria* sp. 71
4.31 ภาพแสดงการทดสอบการออกฤทธิ์การยับยั้งราที่ก่อโรคพืช *Alternaria brasiicola* ของส่วนสกัดหยาบจากราเอนโคไฟต์ *Alternaria* sp. 72
4.32 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ **1** 80
4.33 gHMBC ของสารประกอบ **1** 80
4.34 gCOSY ของสารประกอบ **1** 81
4.35 gNOESY ของสารประกอบ **1** 81
4.36 โครงสร้าง X-ray ของสารประกอบ **1** 82
4.37 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ **2** 84
4.38 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ **3** 87
4.39 gHMBC ของสารประกอบ **3** 88
4.40 gCOSY ของสารประกอบ **3** 88
4.41 gNOESY ของสารประกอบ **3** 89
4.42 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ **4** 91
4.43 gHMBC ของสารประกอบ **4** 92
4.44 gCOSY ของสารประกอบ**4** 92
4.45 gNOESY ของสารประกอบ**4** 92

รูปที่ **หน้า**

4.46 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบ **5** 100

4.47 gHMBC ของสารประกอบ **5** 101

4.48 gCOSY ของสารประกอบ **5** 101

4.49 gNOESY ของสารประกอบ **5** 102

สารบัญแผนภาพ

แผนภาพที่		หน้า
3.1	แสดงขั้นตอนการสกัดสารจากเส้นใยและน้ำลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟต์ *Alternaria* sp	43
3.2	แสดงขั้นตอนการแยกสารจากส่วนสกัดหยาบเอธิลอะซิเตตจากน้ำเลี้ยงราเอนโดไฟต์ 50MLY-5 ที่ผ่านคอลัมน์โครมาโทกราฟฟี	45
3.3	แสดงขั้นตอนการแยกสารจากส่วนสกัดหยาบเอธิลอะซิเตตจากเส้นใยราเอนโดไฟต์ 50MLY-5 ที่ผ่านคอลัมน์โครมาโทกราฟฟี	47
4.1	แสดงผลการการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของราเอนโดไฟต์ที่แยกได้	59
4.2	แสดงชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคจากราเอนโดไฟต์ที่แยกได้	60
4.3	ลำดับเบสบริเวณ ITS ของราเอนโดไฟต์ 50MLY-5	63

คำย่อ

$[\alpha]_D^{20}$	=	Specific rotation at 20° and Sodium D line (589 nm)
ATCC	=	AmericanType Culture Collection, Maryland, U.S.A.
br s	=	broad singlet (for NMR spectal data)
br t	=	broad triplet (for NMR spectal data)
br q	=	broad quartet (for NMR spectal data)
°C	=	degree Celsius
^{13}C-NMR	=	carbon-13 nuclear magnetic resonance
$CDCl_3$	=	deuterated chloroform
CD_3OD	=	deuterated methanol-d_4
$CHCl_3$	=	chloroform
CH_2Cl_2	=	dichloromethane
cm	=	centimeter
CMA	=	Corn Meal Agar
CFU	=	Colony forming unit
gCOSY	=	gradient ^{1}H-^{1}H correlation spectroscopy
δ	=	chemical shift
d	=	doublet (for NMR spectal data)
dd	=	doublet of doublet (for NMR spectal data)
DMSO	=	dimethyl sulfoxide
D_2O	=	deuteriumsulfoxide
dt	=	doublet of triplets (for NMR spectal data)
ε	=	molar absorptivity
eq	=	equatorial
EtOAc	=	ethyl acetate
g	=	gram
HMBC	=	heteronuclear multiple bond correlation
HSQC	=	heteronuclear single quantum coherence
^{1}H-NMR	=	proton nuclear magnetic resonance
Hz	=	hertz

IR	=	infared spectroscopy
ITS	=	internal transcribed spacer
l	=	liter
µl	=	microliter
λ_{max}	=	wavelength of maximum absorption
$[M+H]^+$	=	protonated molecular ion
m	=	multiplet (for NMR spectral data)
MEA	=	Malt Extract Agar
MHB	=	Mueller-Hinton broth
MeOH	=	Methanol
MIC	=	Minimum Inhibitory Concentration
mg	=	milligram
µg	=	microgram
MHz	=	megahertz
ml	=	milliliter
mm	=	millimeter
NA	=	Nutrient Agar
NMR	=	nuclear magnetic resonance
No.	=	Number
PDA	=	Potato Dextrose Agar
ppm	=	part per million
q	=	quartet (for NMR spectral data)
s	=	singlet (for NMR spectral data)
SDA	=	Sabouraud's Dextrose Agar
SEM	=	scaning electron microscope
t	=	triplet (for NMR spectral data)

TLC	=	thin layer chromatography
UV	=	ultraviolet
ν_{max}	=	wave number at maximum absorption
YES	=	Yeast Extract Sucrose Agar