

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การแยกบริสุทธิ์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อต้าน
โรคชอล์คบรูดในตัวอ่อนผึ้ง

ผู้เขียน

นายสุรชัย เตชะเอี่ยม

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร. ภาณุวรรณ จันทวรรณกุล	ประธานกรรมการ
รศ.ดร. สายสมร ลำยอง	กรรมการ
อ.ดร. ภกวรรณ พวงสมบัติ	กรรมการ
อ.ดร. หทัยชนก วงศ์เทพ	กรรมการ

บทคัดย่อ

จากการศึกษาหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในพืชสมุนไพรเพื่อใช้ควบคุมโรคชอล์คบรูด จากเชื้อรา *Ascospaera apis* IFO31608 สาเหตุโรคผึ้ง โดยใช้สารสกัดจากพืช 19 ชนิดคือ ผักเป็ม (*Acanthopanax trifoliatum* Merr.) แดงน้ำ (*Aglaia cucullata* (Roxb.) Pellegr.) ผักปลั่ง (*Basella alba* Linn.) เสี้ยวดอกแดง (*Bauhinia purpurea* Linn.) ปีนนกลีไ้ (*Bidens pilosa* Linn.) สะแล (*Broussonetia kurzii* Corner.) อบเชย (*Cinnamomum cassia*) ผักก้านถึง (*Colubrina asiatica* Brongn.) ถอบแถบ (*Connarus monocarpus* Linn. ssp. *Malayensis* Leenh.) ผักฮ้วนหมู (*Dregea volubilis* Stapf.) ผักเชียงดา (*Gymnema inodorum* Decne.) ขะจาว (*Holoptelea integrifolia* (Roxb.) Planch.) มะริคไม้ (*Oroxylum indicum* Vent.) สะค่าน (*Piper ribesoides* Well.) ผักไผ่ (*Polygonum odoratum* Lour.) มะแว้งต้น (*Solanum indicum* Linn.) ตะบูนดำ (*Xylocarpus moluccensis* (Lam.) M. Roem.) ตะบูนขาว (*Xylocarpus granatum* J. Konig) และมะแขว่น (*Zanthoxylum limonella* Alston.) พบว่ามีเพียงสารสกัดจากอบเชยเท่านั้นที่สามารถให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ ซึ่งแสดงคุณสมบัติฆ่าเชื้อรา (fungicide) นอกจากนี้พบว่าไอของสารสกัดมี

ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (fungistatic) เมื่อแยกสารสกัดด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวนางและตรวจสอบวงใสด้วย Bioautography ได้วงใส 1 แถบที่มีค่า R_f เท่ากับ 0.23-0.27 ส่วนการแยกสารสกัดโดยวิธีคอลัมน์ โครมาโทกราฟี และตรวจวิเคราะห์สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยวิธี GC/MS พบว่าสารที่มีผลออกฤทธิ์ต่อเชื้อราคือ cinnamaldehyde สำหรับความเสถียรของสารสกัดพบว่า สารสกัดที่แยกบริสุทธิ์มีความเสถียรต่อแสงยูวีในช่วงอุณหภูมิ 4-60 °C และ pH ระหว่าง 4-9 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราของสารสกัดอย่างหยาบและที่แยกบริสุทธิ์คือ 215 และ 200.98 ppm นอกจากนี้สารสกัดทางชีวภาพที่แยกบริสุทธิ์ยังสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคตัวอ่อนเน่าของผึ้ง ได้แก่ โรคอเมริกันฟาล์วรูด (*Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* ATCC13537, *P. larvae* subsp. *larvae* LMG9820 และ *P. larvae* subsp. *larvae* Od19) โรคยูโรเปียนฟาล์วรูด (*Melissococcus plutonius* MPX, *M. plutonius* MPL, *M. plutonius* PR2 และ *M. plutonius* PR5) เชื้อ *Bacillus pumilus* NC4099, *B. megaterium* NC3921, *B. cereus* LMG6923, *Enterococcus faecalis*, *B. subtilis* NC3925, *P. polymyxa* NC41626, *P. larvae* subsp. *pulvificans* LMG15974, *Brevibacillus laterosporus* SP63/6803 และ *P. apiarius* LMG17433

Thesis Title	Purification of Bioactive Compounds in Combating Chalkbrood Disease in Bee Larvae	
Author	Mr. Surachai Taechaeyo	
Degree	Master of Science (Biotechnology)	
Thesis Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Panuwan Chantawannakul	Chairperson
	Assoc. Prof. Dr. Saisamorn Lumyong	Member
	Dr. Pakawan Puangsombut	Member
	Dr. Hathaichanok Wongtap	Member

ABSTRACT

To search for plant-derived bioactive compounds for controlling the important bee pathogenic fungi *Ascosphaera apis* IFO31608, crude extracts of nineteen medicinal herbs were (*Acanthopanax trifoliatum* Merr., *Aglaia cucullata* (Roxb.) Pellegr., *Basella alba* Linn., *Bauhinia purpurea* Linn., *Bidens pilosa* Linn., *Broussonetia kurzii* Corner., *Cinnamomum cassia*, *Colubrina asiatica* Brongn., *Connarus monocarpus* Linn. ssp. *Malayensis* Leenh., *Dregea volubilis* Stapf., *Gymnema inodorum* Decne., *Holoptelea integrifolia* (Roxb.) Planch., *Oroxylum indicum* Vent., *Piper ribesoides* Well., *Polygonum odoratum* Lour., *Solanum indicum* Linn., *Xylocarpus moluccensis* (Lam.) M. Roem., *Xylocarpus granatum* J. Konig and *Zanthoxylum limonella* Alston.) prepared and tested against the fungal growth. Laboratory results revealed that only crude extracts of *Cinnamomum cassia* could strongly inhibit the growth of fungi. Besides, when used in the volatile form, the extract also exhibited the fugistatic effect. Based on the TLC analysis and bioautography, only fraction with the Rf value of 0.23-0.27 was capable of inhibiting

the tested fungus. To elucidate the identify of the active compound, the fraction was purified and further analyzed by GC/MS. It was showed that the active compound was cinnamaldehyde. The stability of the purified fraction was also determined and it was still active after UV exposure, incubation between 4 and 60 °C, and in the range of pH 4-9. The minimal inhibitory concentrations of crude extracts and cinnamaldehyde were 215 and 200.98 ppm. Moreover, the active compound could inhibit the American foulbrood pathogen (*Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* ATCC13537, *P. larvae* subsp. *larvae* LMG9820 and *P. larvae* subsp. *larvae* Od19), European foulbrood pathogen (*Melissococcus plutonius* MPX, *M. plutonius* MPL, *M. plutonius* PR2 and *M. plutonius* PR5), *Bacillus pumilus* NC4099, *B. megaterium* NC3921, *B. cereus* LMG6923, *Enterococcus faecalis*, *B. subtilis* NC3925, *P. polymyxa* NC41626, *P. larvae* subsp. *pulvifaciens* LMG15974, *Brevibacillus laterosporous* SP63/6803 and *P. apiarius* LMG17433.