

บทที่ 3

ผลการวิจัย (RESULTS)



3.1 สายพันธุ์ชันโรงที่เหมาะสมจะนำมาเลี้ยงเพื่อเก็บผลผลิต

3.1.1 สายพันธุ์ชันโรงที่เลี้ยงในประเทศไทย

โดยพื้นที่ที่ดำเนินการสำรวจชนิดของชันโรงและทำการคัดเลือกสายพันธุ์ มีดังนี้

3.1.1.1 ตำบลรางบัว อ.จอมบึง จ.ราชบุรี เป็นพื้นที่โดยรอบรัศมีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี วิทยาเขตราชบุรี ซึ่งมีป่าเต็งรังที่มีความสมบูรณ์ดี มีการเพาะปลูกพืชซึ่งเป็นอาหารของผึ้งได้กว่า 40 ชนิด บริเวณหมู่บ้านใกล้เคียงมีพืชอาหารที่ชันโรงสามารถนำมาใช้สร้างน้ำหวานและเกสรได้ตลอดปี เช่น มะขาม มะเฟือง ชมพู ชันโรงที่พบส่วนใหญ่จะเป็นชนิด *Trigona pagdeni* *Trigona laeviceps* และพบชันโรงชนิด *Trigona apicalis* ที่อาศัยอยู่ตามโพรงไม้ และ *Trigona collina* อาศัยอยู่ในโพรงไต้ดิน

3.1.1.2 เกษตรกรผู้เลี้ยงชันโรงในเขตจังหวัดจันทบุรี ครอบคลุมพื้นที่ อ.มะขาม อ.ท่าใหม่ เกษตรกรส่วนใหญ่เป็นชาวสวนผลไม้ซึ่งทำการเลี้ยงชันโรงไว้สำหรับใช้ผสมเกสร เพิ่มผลผลิตผลไม้และได้ประโยชน์ทางการค้าจากผลิตผลของชันโรง อาทิ น้ำผึ้ง พรอพอริส แม้กระทั่งการให้รางวัลชันโรง พื้นที่จังหวัดจันทบุรีมีความอุดมสมบูรณ์ของพืชอาหารที่ชันโรงต้องการมาก ทั้งสภาพภูมิศาสตร์ของพื้นที่ยังเอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ ทำให้สามารถพบชันโรงได้หลากหลายชนิด

3.1.1.3 ศูนย์ผึ้งจังหวัดจันทบุรี การพัฒนา ขยายพันธุ์ชันโรง ให้ความรู้กับเกษตรกรภายในพื้นที่ ติดต่อประสานงานกับศูนย์ผึ้งทั่วประเทศ อาทิ เช่น ศูนย์ผึ้งจังหวัดพิษณุโลก เชียงใหม่ ขอนแก่น และชุมพรเกี่ยวกับความก้าวหน้าของการเพาะเลี้ยงชันโรง ให้ข้อมูลเกี่ยวกับพันธุ์ชันโรงที่ทางศูนย์ต่าง ๆ ทำการเพาะเลี้ยง วิธีการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์ ประโยชน์ของชันโรง และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากชันโรง การแปรรูปผลิตผลจากชันโรงให้เป็นผลิตภัณฑ์ เช่น ยาหม่องจากไขผึ้ง สบู่ น้ำผึ้ง ครีมบำรุงผิวผสมนมผึ้ง ชันโรงที่มีส่วนใหญเป็นชนิดที่ให้ประโยชน์ทางเศรษฐกิจ

3.1.1.4 พื้นที่จังหวัดภาคใต้ของประเทศไทย เช่น ชุมพร สุราษฎร์ธานี มีการรณรงค์ให้เกษตรกรเลี้ยงชันโรงเพื่อประโยชน์ทางการเกษตร เช่น การช่วยผสมเกสรในสวนผลไม้

3.1.1.5 กลุ่มเกษตรกรตำบลบางขันแตก อ. เมือง จ. สมุทรสงคราม สภาพแวดล้อมส่วนใหญ่เป็นสวนมะพร้าว ทำให้มีอาหารเพียงพอตลอดปี มีประชากรชันโรงมาทำรังจำนวนมากแต่ค่อนข้างมีความหลากหลายของชนิดชันโรงน้อย คือพบมากในชนิด *T. pagdeni* และ *T. laeviceps*

3.1.1.6 กลุ่มเกษตรกรตำบล อ. กำแพงแสน นครปฐม เป็นพื้นที่เลี้ยงชันโรงเชิงเศรษฐกิจอีกแห่งหนึ่ง เป็นเครือข่ายความร่วมมือกับกลุ่มผู้เลี้ยงชันโรงในจังหวัดจันทบุรี กลุ่มนี้มีจำนวนสมาชิกอยู่ถึง 41 คน และนับเป็นกลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงชันโรงที่มีความเข้มแข็งที่สุดในพื้นที่ภาคตะวันตก



3.1.2 ชีวิตวิทยาของชันโรงแต่ละชนิดและลักษณะพื้นที่วิจัย

จากการสำรวจพบว่าในประเทศไทยมีชันโรงที่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงได้อย่างน้อย 7 ชนิด ได้แก่ *T. pagdeni*, *T. laeviceps*, *T. terminata*, *T. fascobultata*, *T. apicalis*, *T. collina* และ *T. minor* โดยมี 4 ชนิดเป็นที่นิยมเลี้ยงมากที่สุด ได้แก่

1. *T. pagdeni*

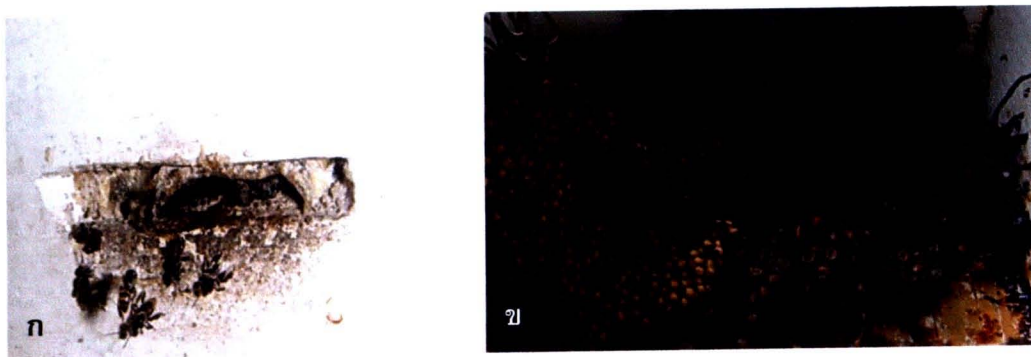
ปากทางเข้ารังเป็นท่อ ปากกว้าง ผ้นแข็ง สีน้ำตาลออกดำจนถึงเทา ปากทางรังขยายออกทางด้านข้าง ภายในรังประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ตัวการเรียงตัวแบบแผงซ้อนแบบเป็นชั้นในแนวนอน ในรังแบบเลี้ยงอาจมองเห็นชั้นไม้ขัด ภายในกลุ่มเซลล์ตัวอ่อน ประกอบด้วยหลอดเซลล์ตัวหนอน และหลอดเซลล์ดักแด่ กลุ่มเซลล์ตัวอ่อนไม่พบผนังปิด กลุ่มถ้วยที่เก็บอาหาร ประกอบด้วยถ้วยเก็บเกสรและถ้วยเก็บน้ำผึ้ง วางตัวปะปนอยู่ด้านล่างของรวงตัวอ่อน (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 แสดงลักษณะทั่วไปของ *T. pagdeni* (ก) ปากทางเข้ารังของ (ข) กลุ่มตัวอ่อนและดักแด่ เซลล์เก็บเกสร และน้ำหวาน

2. *T. laeviceps*

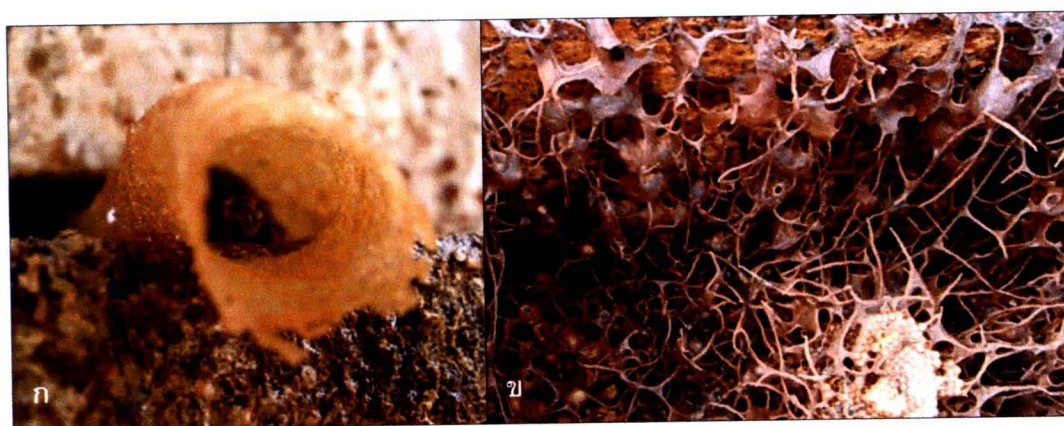
T. laeviceps มีปากทางเข้ารังน้ำตาลเข้มหรือสีอำพัน มีลักษณะแข็งตรงฐานของปากทาง และมีความเหนียวและอ่อนนุ่ม ส่วนปลายและขอบในปากทางเข้ารังค่อนข้างสันและไม่มีท่อยืดยาวออกมา เซลล์ตัวอ่อนเรียงเป็นแบบกลุ่มก้อนซ้อนกันหลายๆ ชั้น เซลล์เก็บน้ำผึ้งและเกสรเป็นถ้วยกลมวางเรียงซ้อนกันเป็นกลุ่ม (Sakagami et al., 1983; อังลี, 2546; Dollin, 1996) (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 แสดงลักษณะทั่วไปของ *T. laeviceps* (ก) ปากทางเข้ารังของ (ข) กลุ่มตัวอ่อนและดักแด้ เซลล์เก็บเกสร และน้ำหวาน

3. *T. terminata*

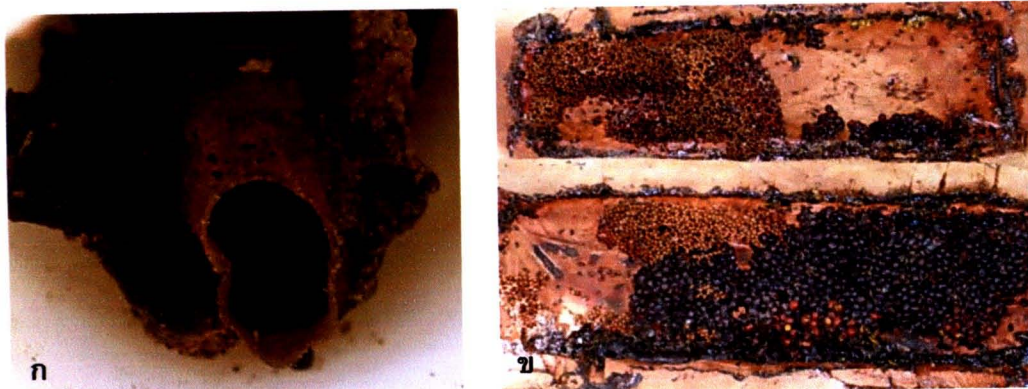
T. terminata อยู่ใน sub genus *Lepidotrigona* เป็นชันโรงที่ค่อนข้างบอบบาง มีขนาด 4.0 - 5.5 มม. ปากทางเข้ารังมีสีเปลี่ยนแปลงได้ อ่อนนุ่ม ผนังลาดตรง ผิวเรียบ ไม่มีความเหนอะหนะ ชันโรงสามารถผ่านเข้าไปได้ครั้งหลาย ๆ ตัว ขอบด้านข้างขยายออกเป็นปากแตร เซลล์ตัวอ่อนเรียงตัวเป็นแบบรวงซ้อนตามแนวนอน เซลล์เก็บอาหาร มีลักษณะคล้ายถึงหมักเบียร์วางซ้อนกันอยู่ เซลล์เก็บน้ำผึ้งมีสีน้ำตาลปนดำเป็นถ้วยรูปกลมขนาดใหญ่ แต่ละเซลล์เชื่อมกันมองเห็นเป็นลักษณะเครือข่าย แต่มีความบอบบางมาก เซลล์เก็บเกสรมีขนาดใกล้เคียงกับเซลล์เก็บน้ำผึ้ง (วันทา, 2546; Dollin, 1996) (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 แสดงลักษณะทั่วไปของ *T. terminata* แสดงลักษณะ (ก) ปากทางเข้ารัง (ข) กลุ่มตัวอ่อนและดักแด้ เซลล์เก็บเกสร และน้ำหวาน

4. *T. fuscobalteata*

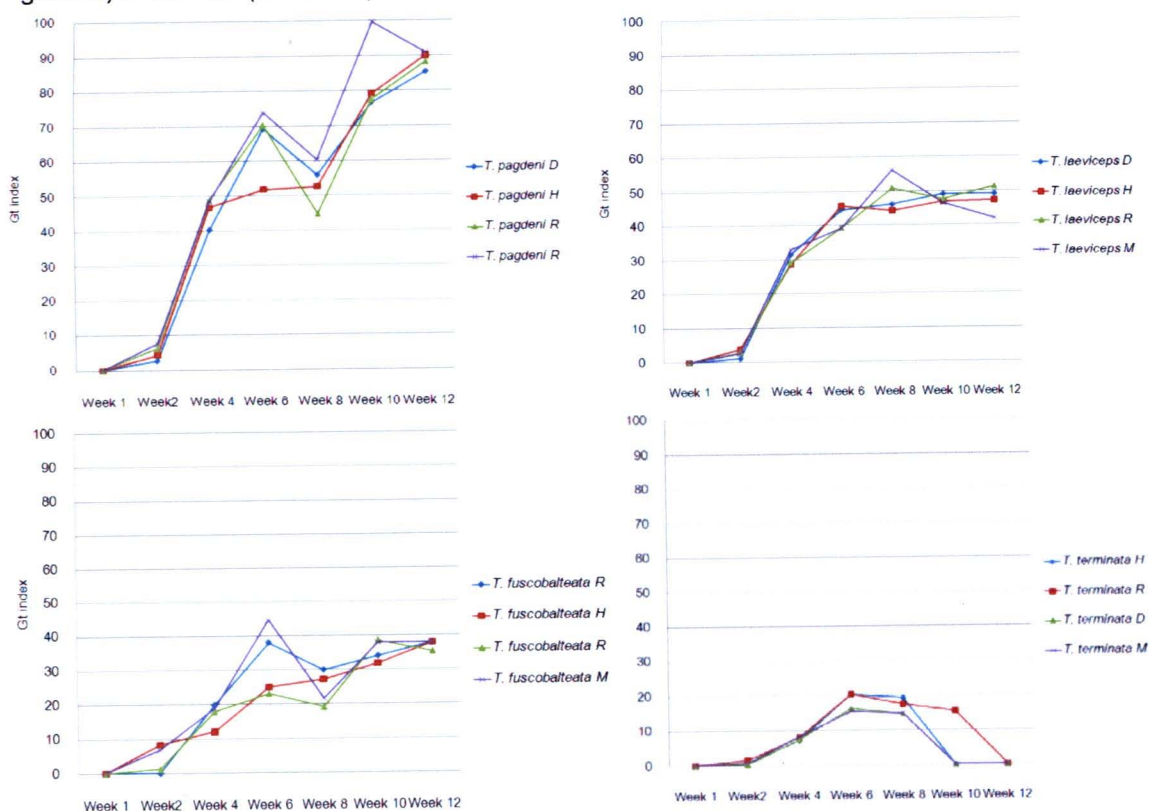
T. fuscobalteata มีลักษณะปากรังไม่มีท่อ สีอำพันหรือสี อำพันออกดำ อ่อนนุ่ม ผนังบางค่อนข้างเรียบ ปกติลาดตรง มีความเหนียวเหนอะหนะ ปากทางเข้าด้านข้างบางครั้งก็ขยาย ขนาดตัวเล็ก เซลล์น้ำหวานและเกสรมีลักษณะกลม อยู่เป็นกลุ่ม น้ำผึ้งมีสีอำพันสวยงาม เป็นชนิดที่มีขนาดเล็กที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทั้ง 3 ชนิด (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 แสดงลักษณะทั่วไปของ *T. fuscobalteata* แสดงลักษณะ (ก) ปากทางเข้ารัง (ข) กลุ่มตัวอ่อนและดักแด้ เซลล์เก็บเกสร และน้ำหวาน

3.1.3 การเจริญเติบโตของรังชันโรงการวิเคราะห์ด้วยวิธี Image Analysis

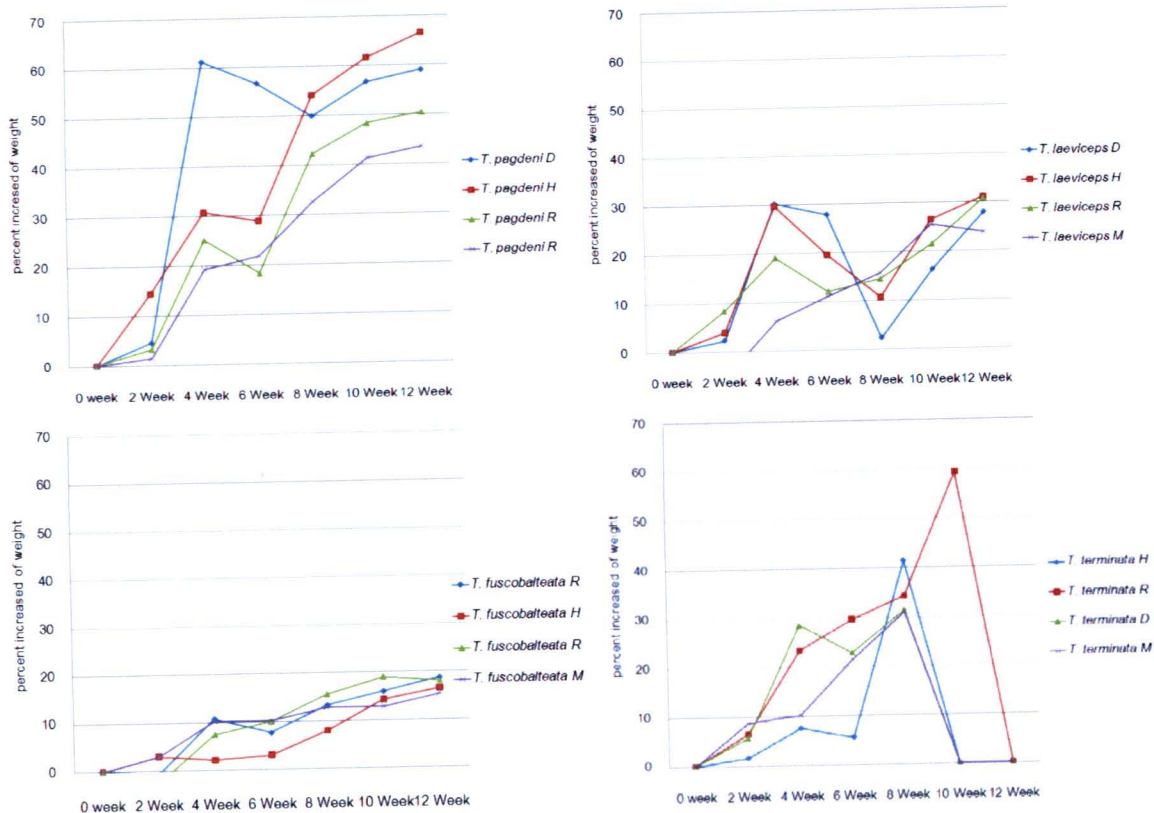
การเปลี่ยนแปลงปริมาตรของเซลล์ไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ น้ำหวานและเกสร รังมีการเจริญเติบโตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) ในชันโรงทั้ง 4 ชนิด โดยชันโรงชนิด *T. pagdeni* ($1,011.45 \pm 121.27$ g/week) และ *T. terminata* (786.93 ± 84.50 g/week) มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุดจากนั้นเป็น *T. laeviceps* (628.23 ± 11.19 g/week) และ *T. fuscobalteata* (84.06 ± 31.02 g/week) ตามลำดับ (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาตรเซลล์ไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ น้ำหวานและเกสร (Gt Index) ของรังทุก 2 สัปดาห์ ตลอดช่วงการเลี้ยง 3 เดือน

การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักกุ้ง

ร้อยละการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของกุ้งมีการเจริญเติบโตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในชั้นโรงทั้ง 4 ชนิด โดยชั้นโรงชนิด *T. pagdeni* (37.20 ± 9.95) และ *T. laeviceps* (17.19 ± 3.15) มีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุด จากนั้นเป็น *T. terminata* (15.39 ± 7.12) และ *T. fuscobalteata* (10.22 ± 1.58) ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ชั้นโรงชนิด *T. terminata* มีอัตราการหนึ่งสูงที่สุด โดยพบว่าทุกรัง (ที่เลี้ยงในกล่อง) หนึ่งรังทั้งหมดเมื่อนำมาเลี้ยงได้ 3 เดือน (ภาพที่ 12)



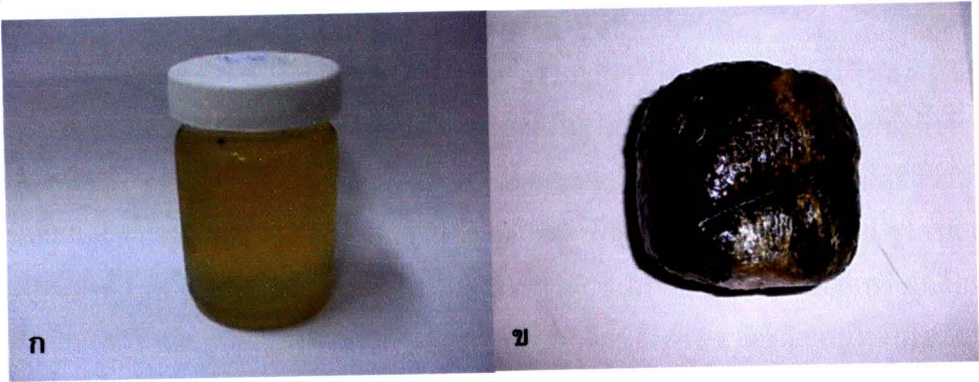
ภาพที่ 12 แสดงการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักกุ้งทุก 2 สัปดาห์ ตลอดช่วงการเลี้ยง 3 เดือน

3.1.4 ผลผลิตที่ได้

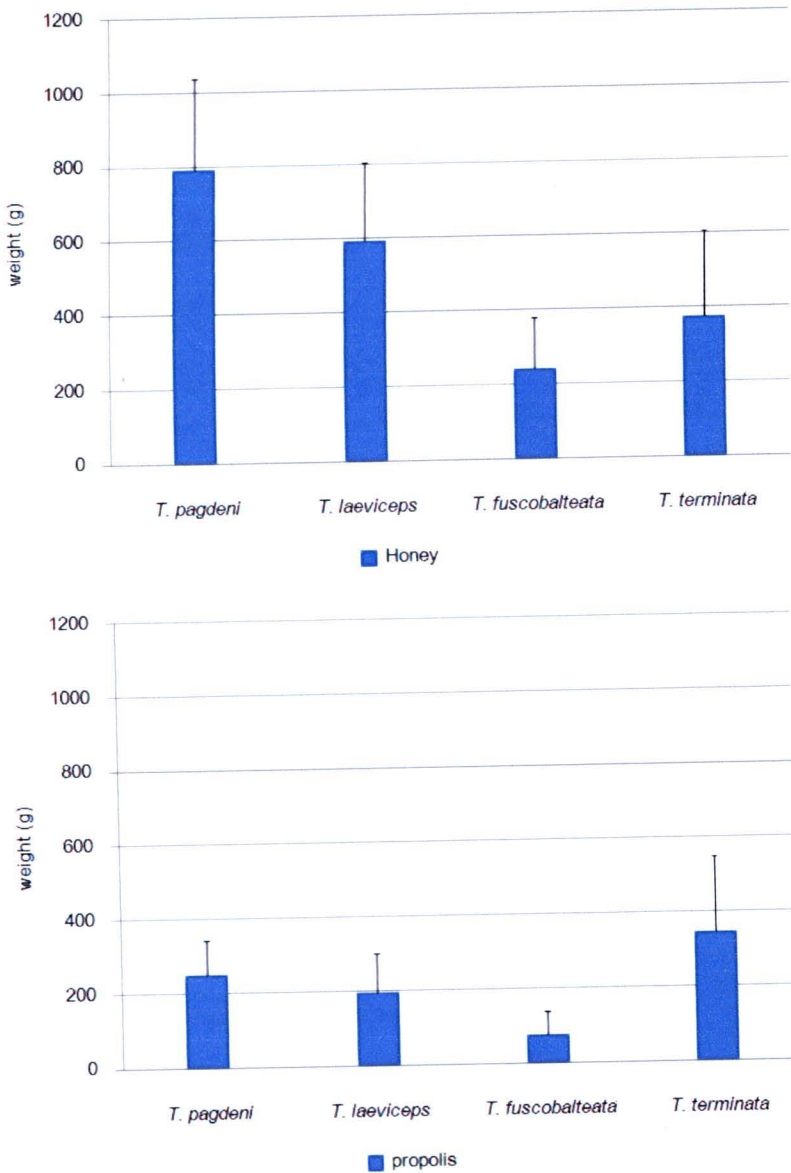
3.1.4.1 น้ำผึ้งและพรอพอลิส

จากการเก็บผลผลิต (ภาพที่ 13) ชั้นโรงให้ผลผลิตน้ำผึ้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($n=5$, $p = 0.025$) โดยเก็บได้เฉลี่ยต่อครั้ง 739 ± 245 กรัม ใน *T. pagdeni*, 594 ± 210 กรัม ใน *T. laeviceps*, 374 ± 230 กรัม ใน *T. terminata* และ 240 ± 245 กรัม ใน *T. fuscobalteata* (ภาพที่ 14)

ผลผลิตพรอพอลิสเก็บได้เฉลี่ยต่อครั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($n=5$, $p = 0.04$) 346 ± 203 กรัม ใน *T. terminata*, 250 ± 92 กรัม ใน *T. pagdeni*, 196.6 ± 104.97 กรัม ใน *T. laeviceps* และ 76.56 ± 60.7 กรัม ใน *T. fuscobalteata* (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 13 ผลผลิตที่ได้จากชันโรง (ก) น้ำผึ้ง (ข) พรอพอลิส



ภาพที่ 14 น้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยที่เก็บได้ น้ำผึ้ง (honey) และพรอพอลิส (propolis) จากชันโรงทั้ง 4 ชนิด

3.2 การวิเคราะห์น้ำผึ้งจากชันโรงเพื่อสร้างมาตรฐานสู่ท้องตลาด

ผลการวิเคราะห์น้ำผึ้งทั้ง 3 ชนิด ตามมาตรฐานอุตสาหกรรม (มอก.) น้ำผึ้ง (*T. fuscobalteata*) สามารถเก็บน้ำผึ้งได้น้อยมาก ปริมาณไม่เพียงพอต่อการตรวจ) โดยน้ำผึ้งจากชันโรงทั้ง 3 ชนิด *T. pagdeni* *T. laeviceps* และ *T. terminata* มีระดับน้ำตาลรีดิวซิงน้อยกว่ามาตรฐาน ความชื้นและความเป็นกรดสูงกว่ามาตรฐาน โดยลักษณะอื่นๆ ได้แก่ ลักษณะทั่วไป ชูโครส สารที่ไม่ละลายน้ำ เถ้า ค่าไดแอสเตส แอกติวิตี ปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัล กรดหรือเกลือของกรดเบนโซอิก กรดหรือเกลือของกรดซอร์บิก กรดหรือเกลือของกรดซาลิซิลิก อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน พร้อมทั้งยังไม่พบส่วนผสมของแซ็กคาริน ซัคคาเมต สีผสมอาหาร (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์น้ำฝักจากชันโรงตามมาตรฐานอุตสาหกรรม

คุณสมบัติ	ผลการทดสอบ			
	เกณฑ์มาตรฐาน	<i>T. pegdeni</i>	<i>T. laeviceps</i>	<i>T. terminata</i>
ลักษณะทั่วไป		ของเหลวข้นสีน้ำตาล	ของเหลวข้นสีน้ำตาล	ของเหลวข้นสีน้ำตาล
น้ำตาลรีดิวซ์คิดเป็นน้ำตาลอินเวิร์ต (ร้อยละ)	≥ 65	61.4 *	55.5 *	42.5 *
ความชื้น (ร้อยละ)	≤ 21	23.3 *	23.6 *	23.3 *
ซูโครส (ร้อยละ)	≤ 5	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
สารที่ไม่ละลายน้ำ (ร้อยละ)	≤ 0.1	0.06	0.34	0.20
เถ้า (ร้อยละ)	≤ 0.6	0.25	0.24	0.25
ความเป็นกรด (มิลลิวีควาเลนท์ของกรด/กิโลกรัม)	≤ 40	113.6 *	112.4 *	206.8 *
ค่าไคแอสเดส แอกดิวิตี (Gothie scale)	≥ 3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
ปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิรัล (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	≤ 80	28.8	20.2	20.0
สีผสมอาหาร (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
กรดหรือเกลือของกรดเบนโซอิก (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
กรดหรือเกลือของกรดซอร์บิก (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
กรดหรือเกลือของกรดซาลิซิลิก (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
แซ็กคาริน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
ซัลฟิลาเมต (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ

* คุณลักษณะข้อนี้ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานน้ำผึ้ง (ตามมาตรฐานอุตสาหกรรม)

3.3 ผลการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในน้ำผึ้งและพรอพอลิสจากชันโรง

3.3.1 ลักษณะทางกายภาพของน้ำผึ้งและสารสกัดพรอพอลิส

น้ำผึ้ง: จะมีลักษณะเหนียวข้น มีสีน้ำตาลทองคล้ายสีน้ำผึ้งแต่มีลักษณะใสกว่า

พรอพอลิส: สารสกัดจะมีลักษณะเหนียวข้นมาก มีสีแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของชันโรง

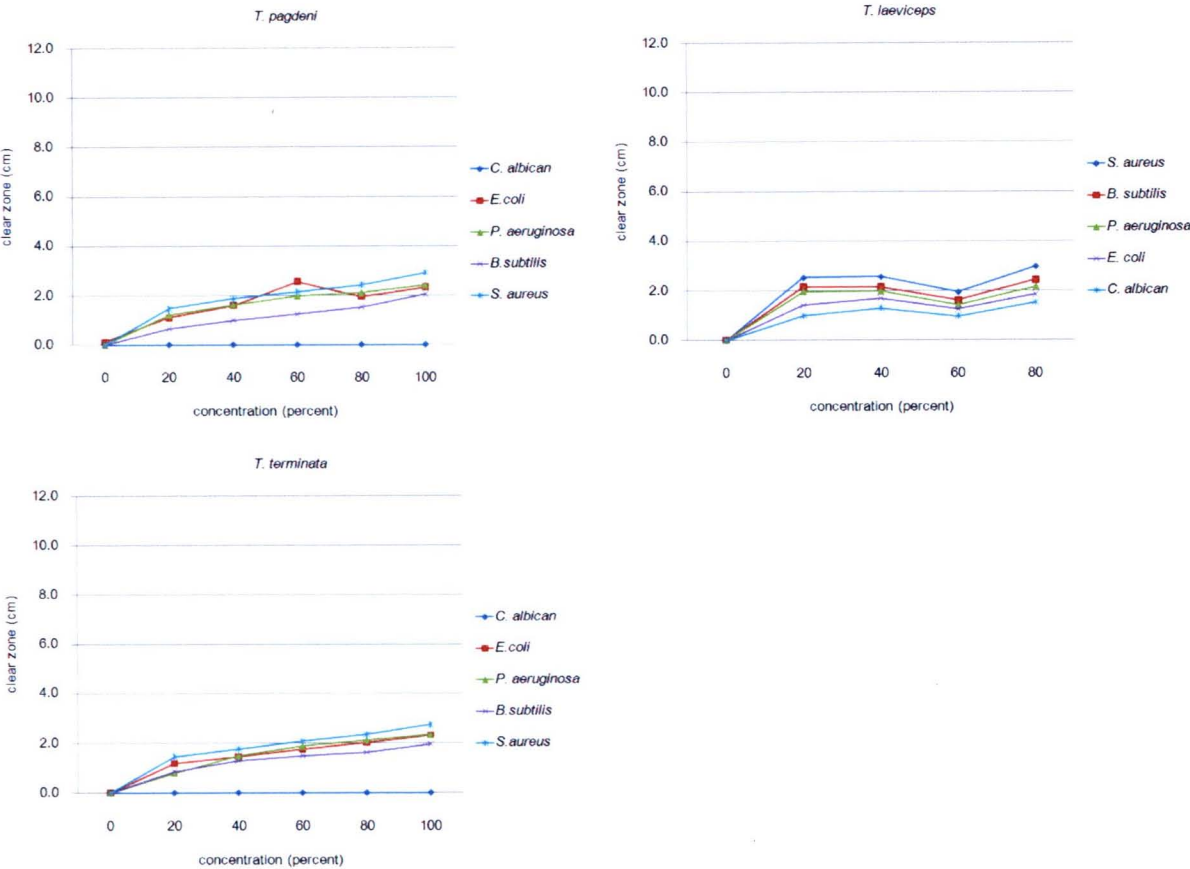
สารสกัดพรอพอลิสจาก *T. pagdeni*: มีสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะเหนียวมาก

สารสกัดพรอพอลิสจาก *T. laeviceps*: มีสีน้ำตาลเข้ม มีความเหนียวมาก

สารสกัดพรอพอลิสจาก *T. terminata*: มีสีน้ำตาลน้ำตาลแดงทอง ลักษณะเหนียวน้อยกว่าสองชนิดข้างต้น

3.3.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Agar Diffusion Assay

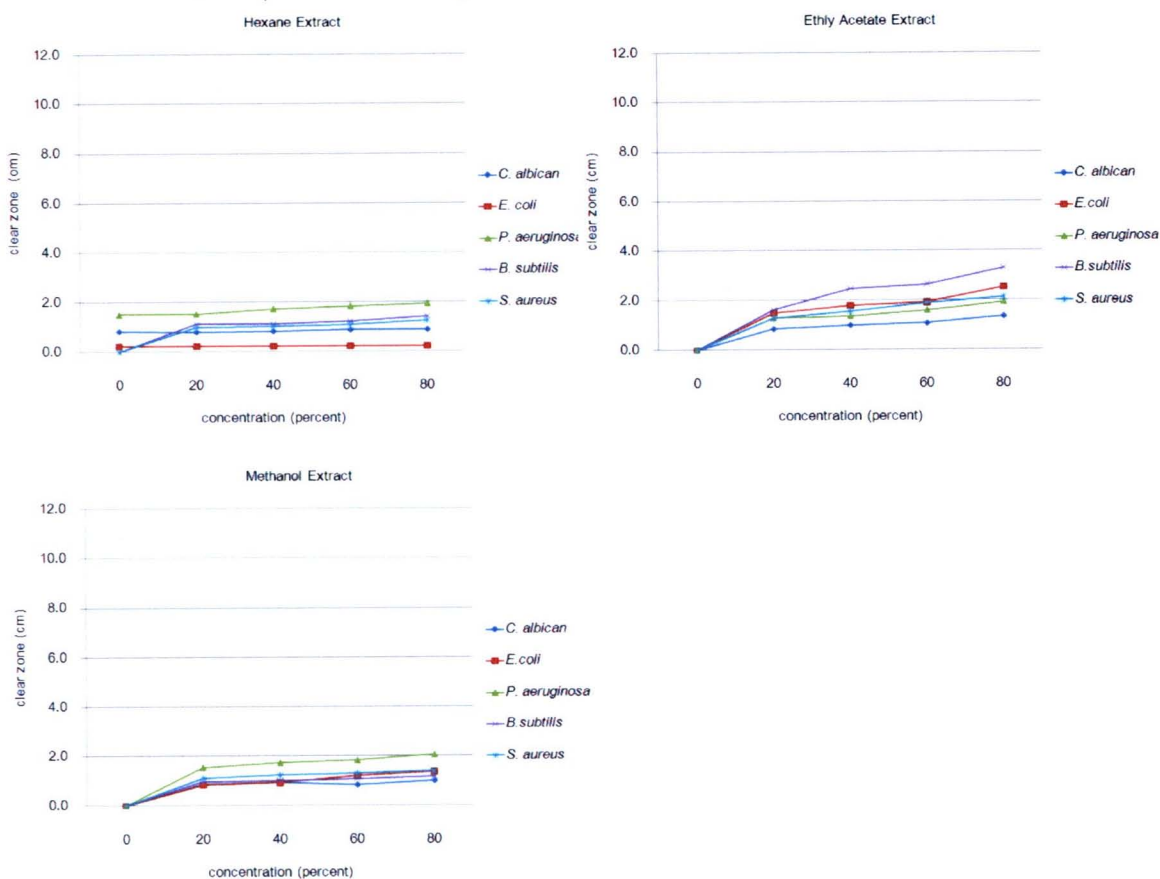
ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 5 ชนิดในเบื้องต้นด้วยน้ำผึ้ง พบว่า น้ำผึ้งจากชันโรงทั้ง 3 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของ *C. albican*, *E.coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* และ *S. aureus* ได้อย่างดี (ภาพที่ 15)



ภาพที่ 15 ขอบเขตการยับยั้ง (clear zone) จากการทดสอบด้วยน้ำผึ้งจากชันโรง 3 ชนิด (ด้วยวิธี agar diffusion assay)

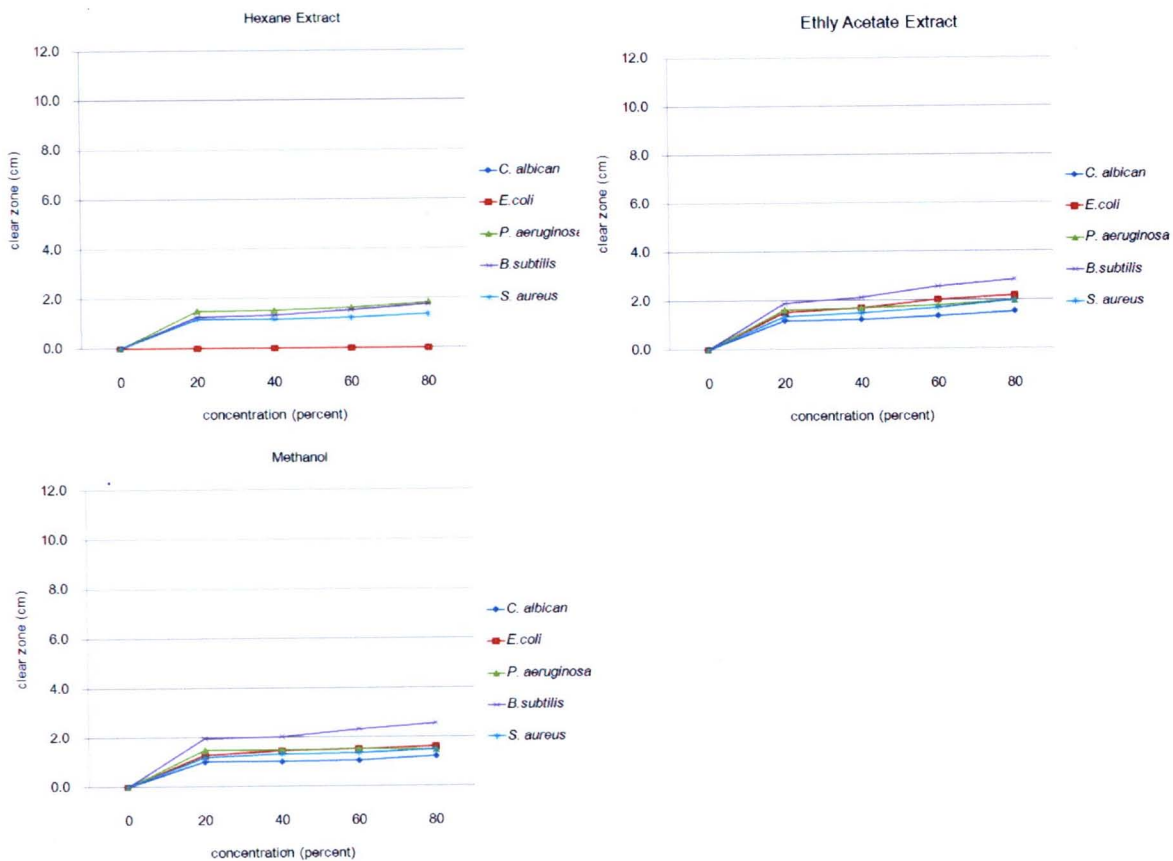
ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 5 ชนิดในเบื้องต้นด้วยสารสกัดหยาบพอร์พลิส พบว่าพอร์พลิส สามารถยับยั้งการเจริญของ *E.coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* และ *S. aureus* ได้อย่างดี แต่มีพอร์พลิสจากบางชนิดเท่านั้นที่สามารถยับยั้ง *C. albican* ได้ (รูปที่ 16-18)

สารสกัดหยาบพอร์พลิสจาก *T. pagdeni* สารสกัดหยาบ Ethyl Acetate ให้ผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด จากนั้นคือสารสกัดหยาบ Methanol ส่วนสารสกัดหยาบ Hexane ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้น้อยที่สุด และไม่สามารถยับยั้ง *E. coli* ได้เลย (ภาพที่ 16)



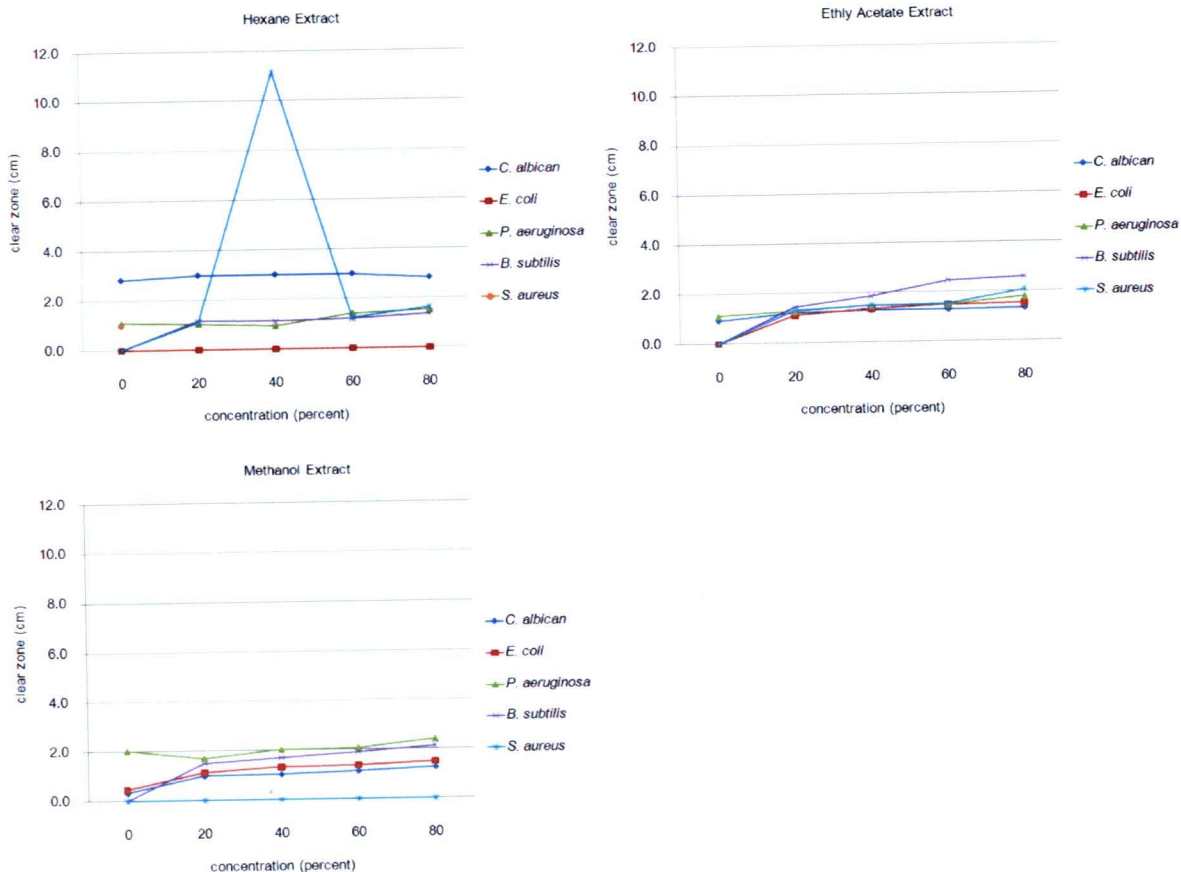
ภาพที่ 16 ขอบเขตการยับยั้ง (clear zone) จากการทดสอบด้วยสารสกัดหยาบพอร์พลิสจาก
ชั้นโรงชนิด *T. pagdeni*

สารสกัดหยาบพอร์พลิสจาก *T. laeviceps* สารสกัดหยาบ Ethyl Acetate และ Methanol ให้ผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดหยาบ Hexane ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ได้เลย (ภาพที่ 17)



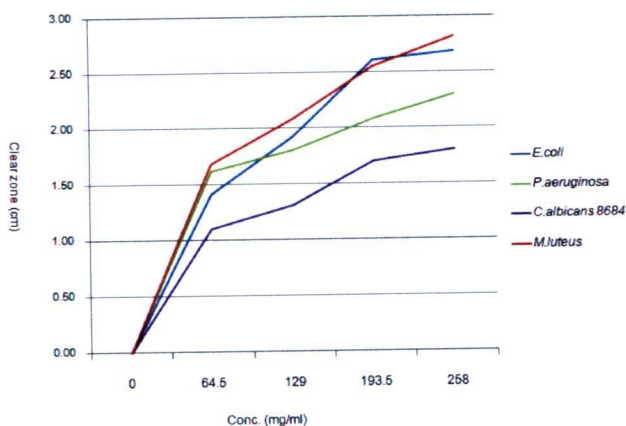
ภาพที่ 17 ขอบเขตการยับยั้ง (clear zone) จากการทดสอบด้วยสารสกัดหยาบพรอพอลิสจาก
ชันโรงชนิด *T. laeviceps*

สารสกัดหยาบพรอพอลิสจาก *T. terminata* สารสกัดหยาบ Ethyl Acetate ให้ผลยับยั้ง
การเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดและยับยั้งได้ทุกชนิด ส่วนสารสกัดหยาบ Methanol ไม่สามารถ
ยับยั้ง *S. aureus* และสารสกัด Hexane ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ได้ (ภาพที่ 18)



ภาพที่ 18 ขอบเขตการยับยั้ง (clear zone) จากการทดสอบด้วยสารสกัดหนามพรพอลิสจาก
ชันโรงชนิด *T. terminata*

3.3.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Paper disc diffusion assay (อ้างอิงจาก จุฑากร ชาติไทย, 2553)



ภาพที่ 19 ขอบเขตการยับยั้ง (clear zone) จากการทดสอบด้วยน้ำผึ้งจากชันโรง *T. laeviceps* (ด้วยวิธี paper disc diffusion assay)

ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 5 ชนิดในเบื้องต้นด้วยสารสกัดอย่างหยาบ โดยวิธี Paper disc diffusion assay ให้ค่า MIC คือ *M. luteus* (64.5) *P. aeruginosa* (*P. aeruginosa*) *E. coli* (64.5). *C. albicans* ATCC8684 (64.5) และ *C. albicans* ATCC5815 (เชื้อไม่เจริญ จึงทดสอบไม่ได้) (ภาพที่ 19)

3.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ต่อแบคทีเรียก่อโรคจากการแยกแฟรกชัน

Hexane, 40% MeOH และ CH₂Cl₂

การแยกสารเบื้องต้นตามความมีขั้วของสารโดยการทำ partition ด้วยกรวยแยกสามารถแยกสารได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ต่อแบคทีเรียก่อโรค ด้วยวิธี microbroth dilution assay ของสารสกัดน้ำผึ้ง ทำให้ได้ค่า MIC ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงค่า MIC (mg/ml) และ MBC (mg/ml) ของสารสกัดในแต่ละกลุ่มตัวทำละลายที่แยกได้หลังการทำ partition ด้วยกรวยแยก ที่ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

ชนิด	MIC (mg/ml)			MBC (mg/ml)		
	40% MeOH	CH ₂ Cl ₂	hexane	40% MeOH	CH ₂ Cl ₂	Hexane
<i>M. luteus</i>	60	10	20	80	20	40
<i>P. aeruginosa</i>	40	10	20	60	10	20
<i>E. coli</i>	100	-	-	120	-	-

Quick Column Chromatography

การแยกสารจากชั้น hexane และ CH₂Cl₂ ซึ่งมีค่า MIC ต่ำเมื่อเทียบกับ 40% MeOH แสดงว่ามีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ต่อแบคทีเรียก่อโรคได้ดีที่สุด โดยการทำ quick column chromatography นั้นสามารถแยกสารได้ทั้งหมด 13 กลุ่ม คือ จาก hexane 4 กลุ่ม และจาก CH₂Cl₂ อีก 9 กลุ่ม

ในการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ต่อแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด ด้วยวิธี microbroth dilution assay ของสารสกัดน้ำผึ้ง ครั้งที่ 2 จากสารทั้ง 13 fractions โดยบาง fraction มีแนวโน้มที่สามารถต้านการเจริญ แต่เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติแล้วพบว่าไม่สามารถต้านการเจริญได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.5 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

จากผลการวิเคราะห์ด้วย GC-MS พบสารทั้งหมดกว่า 90 ชนิด ส่วนใหญ่เป็น terpinoids diterpinoids และ phenolic compounds และยังมีกลุ่มสารประกอบไฮโดรคาร์บอนบางส่วน ดังแสดงตามตารางที่ 3 (ภาพที่ 20-28)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบเคมีที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดพอลิซิสโพร่งที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์

ลำดับ	องค์ประกอบ (Compounds)	RT	T. pagdeni			T. laeviceps			T. terminata		
			H	EtOAc	MeOH	H	EtOAc	MeOH	H	EtOAc	MeOH
1	(1-cyclohexen-1-yloxy)trimethyl-Silane	2.158	0.976								
2	2-[(trimethylsilyl)oxy]-Propanoic acid trimethylsilyl ester	2.17		3.136	1.319		2.912	2.225		1.422	0.973
3	Tetradecane	4.696		0.639	0.575						
4	Trimethylsilyl ether of glycerol	4.761	5.646	5.679	5.92	5.03	7.227	5.418	5.182	4.387	4.747
5	Tridecane	5.01	0.09						0.091		
6	Docosane	8.585	0.889	0.792	0.678	0.733	1.051	0.934	0.953	0.893	0.366
7	Triacontane	8.716	0.258	0.818		0.756				0.811	0.128
8	(R*,R*)-2,3,4-tris[(trimethylsilyl)oxy]-Butanal	9.338									1.196
9	1,2,3,4-tetrakis[(trimethylsilyl)oxy]-Butane	9.498			0.299						
10	.gamma.-lactone, 1-2,3,5-tris-O- (trimethylsilyl)-Arabinoic acid	11.994									0.108
11	Dodecanoic acid, trimethylsilyl ester	12.071		0.103							
12	10-oxide, 2-chloro-8-ethyl-10-hydroxy-10H- Phenoxaphosphine	12.854					0.119				
13	Hexacosane	13.109		0.111			1.034	0.128		0.896	



ตารางที่ 3 องค์ประกอบเคมีที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดพอลิสน้ำมันพืชที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (ต่อ)

ลำดับ	องค์ประกอบ (Compounds)	RT	T. pagdeni			T. laeviceps			T. terminata		
			H	EtOAc	MeOH	H	EtOAc	MeOH	H	EtOAc	MeOH
14	2-methyl-Eicosane	13.992	0.093								
15	1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-Xylitol	14.087									1.262
16	1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-Ribitol	14.176									0.177
17	2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-L-Altrose	14.378									0.347
18	1,4-Benzenedicarboxylic acid, bis(trimethylsilyl) ester	15.006	0.215	0.205	0.137	0.184	0.377	0.307	0.168	0.503	
19	Tetradecanoic acid, trimethylsilyl ester	16.109	0.314	0.239		0.288	0.477	0.399	0.401	0.289	
20	1,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-D-Fructose	16.648			3.756		0.465	0.783			1.134
21	(1,2,4,5-cyclohexanetetrayl/tetraoxy)tetrakis(trimethyl-Silane	17.135									0.201
22	1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-Arabinofuranose	17.135		0.25							
23	methyl 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.alpha.-D-Mannopyranoside	17.336								0.372	1.013
24	Heneicosane	17.425	0.164	0.14	0.643	0.94	0.209	0.989	0.71	1.043	0.382
25	Glucopyranose pentaTMS	17.538			12.938			0.478			
26	1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-Glucopyranuronic acid, trimethylsilyl ester	17.544				0.772					

ตารางที่ 3 องค์ประกอบเคมีที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดพอลิสน้ำมันพืชที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (ต่อ)

ลำดับ	องค์ประกอบ (Compounds)	RT	T. pagdeni			T. laeviceps			T. terminata		
			H	EtOAc	MeOH	H	EtOAc	MeOH	H	EtOAc	MeOH
27	2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-D-Galactose	17.55									22.693
28	1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-.alpha.-D-Galactopyranose	17.787									0.97
29	Methyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate	17.906	0.278			0.254	0.328	0.296	0.35	0.405	
30	Tetracosane	18.238	0.796								
31	Pentacosane	18.249		1.168	0.719	0.136	1.124	1.151	0.958	0.865	
32	1,2,3,4,5,6-hexakis-O-(trimethylsilyl)-D-Mannitol	18.279			4.406						14.45
33	Hexadecanoic acid, ethyl ester	18.836		0.497	0.762	0.121	0.778	1.448	0.361	0.748	0.193
34	pentakis-O-trimethylsilyl-Glucose	19.406			8.127		0.372				
35	Germanicol	19.429									17.358
36	2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-Galactonic acid, trimethylsilyl ester	19.643			1.158						
37	2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-D-Gluconic acid, trimethylsilyl ester	19.648									1.814
38	Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester	19.898	23.988	27.329	19.384	23.19	31.17	33.568	27.137	28.024	11.784

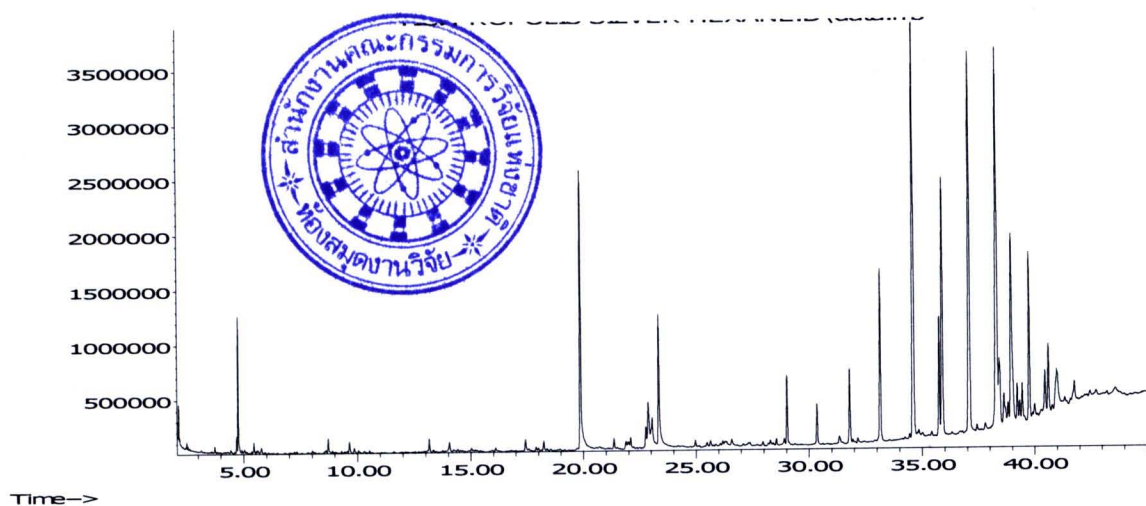
ตารางที่ 3 องค์ประกอบเคมีที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (ต่อ)

ลำดับ	องค์ประกอบ (Compounds)	RT	T. pagdeni			T. laeviceps			T. terminata		
			H	EtOAc	MeOH	H	EtOAc	MeOH	H	EtOAc	MeOH
39	1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-Glucopyranose	20.437									0.667
40	(Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	20.674			0.711						
41	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester	20.799			1.26						
42	Triolein	20.811						1.002			
43	1,2,3,4,5,6-hexakis-O-(trimethylsilyl)-Myo-Inositol	21.143									0.202
44	8-heptyl-Pentadecane	21.344		0.472							
45	Linoleic acid ethyl ester	21.896	0.693	1.382	1.589			1.157			0.668
46	9,12-Octadecadienoic acid, ethyl ester	21.896					0.629				
47	Ethyl Oleate	21.961					1.505	2.813		0.567	0.267
48	(Z,Z,Z)-9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester,	21.985		1.414	1.831						
49	Octadecanoic acid, ethyl ester	22.459			0.164			0.242			
50	(Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid, trimethylsilyl ester	22.785	1.549		0.909	0.429					

ตารางที่ 3 องค์ประกอบเคมีที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดพอลิสน้ำมันโรงที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (ต่อ)

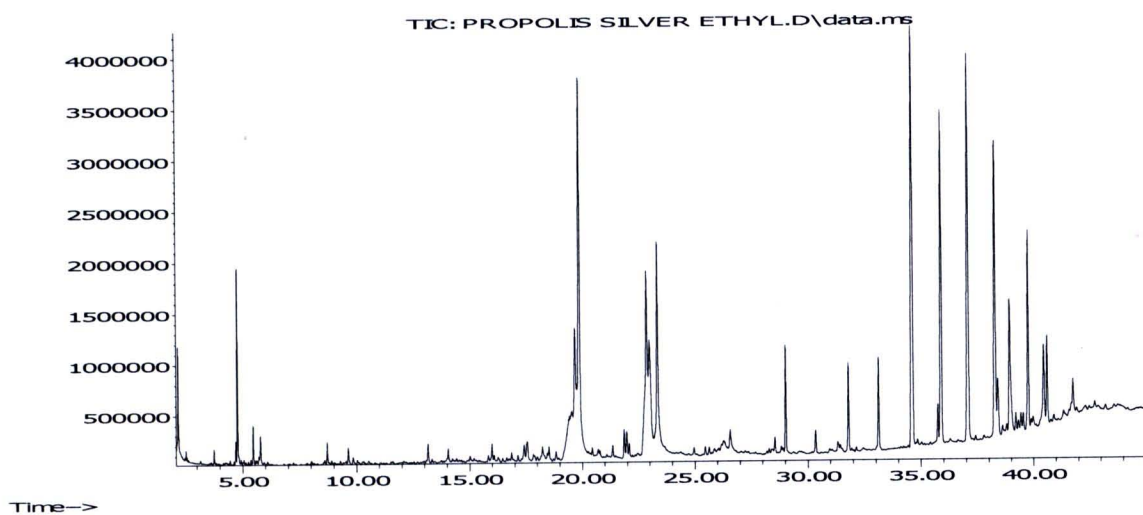
ลำดับ	องค์ประกอบ (Compounds)	RT	T. pagdeni			T. laeviceps			T. terminata		
			H	EtOAc	MeOH	H	EtOAc	MeOH	H	EtOAc	MeOH
75	9-Nonadecene	32.787								4.413	0.98
76	Nonacosane	33.143	13.056	4.386	0.184	3.547	7.826		2.311	14.451	0.271
77	Octacosane	33.196	0.552	0.994		18.16		0.983	0.505	2.021	
78	4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-galactopyranosyl]-1,2,3,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-D-Glucopyranose	33.706									0.879
79	4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-galactopyranosyl]-2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-D-Glucose	34.382									0.957
80	Eicosane	35.769	8.438	0.325		0.156	0.993	0.643	1.128	0.747	
81	Hen triacontane	35.77					3.855		5.674		
82	Heptadecane	35.811				16.35			21.191		
83	4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-Octamethyl-1,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,14,14a,14b-octadecahydro-2H-picen-3-one	38.36		3.878	15.685	10.97		18.551	3.67	5.589	1.608
84	.beta.-Amyrin trimethylsilyl ether	38.835	2.288	0.726	1.766	2.914		3.43	6.827	4.056	2.379
85	.alpha.-Amyrin	38.935		10.242							
86	Urs-12-ene	38.971	21.385					8.37			

Abundance



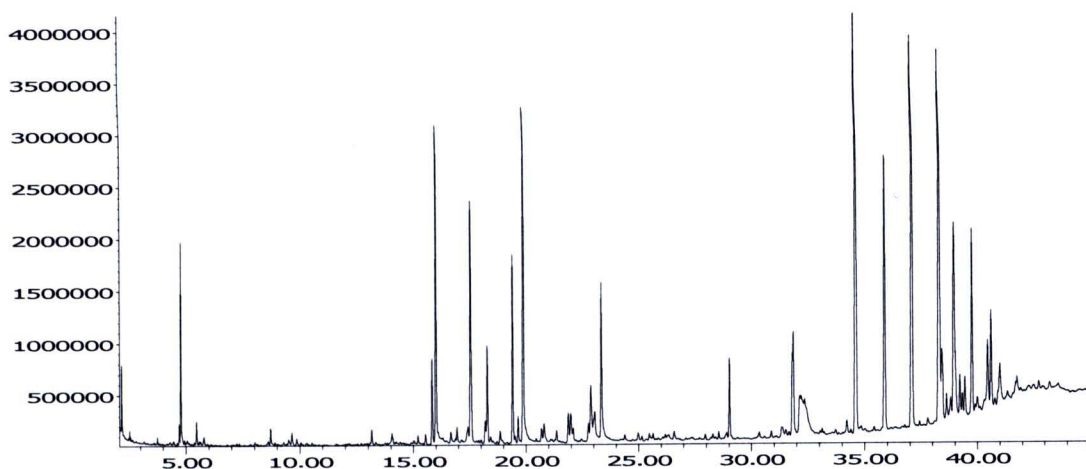
ภาพที่ 20 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Hexane ของพรอพอลิส จาก *T. pagdeni*

Abundance



ภาพที่ 21 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Ethyl acetate ของพรอพอลิส จาก *T. pagdeni*

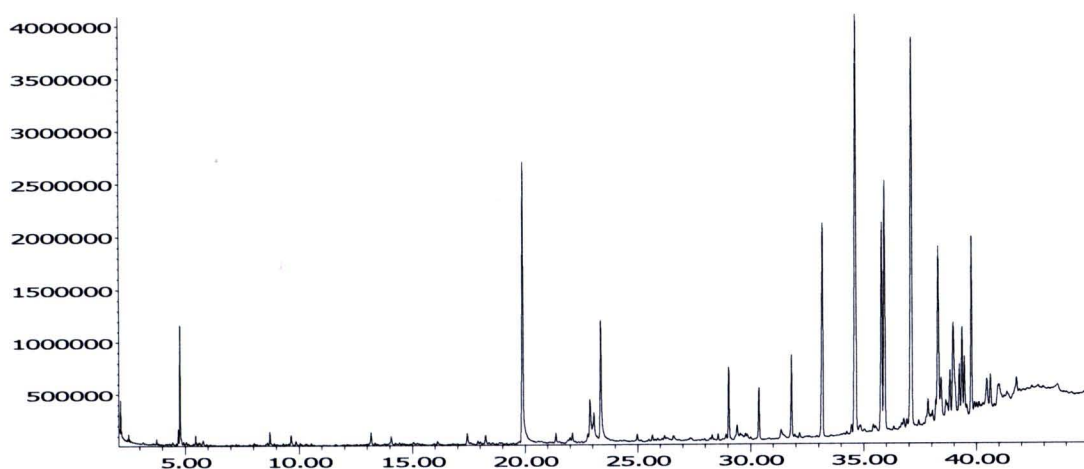
Abundance



Time-->

ภาพที่ 22 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Methanol ของพรอพอลิส จาก *T. pagdeni*

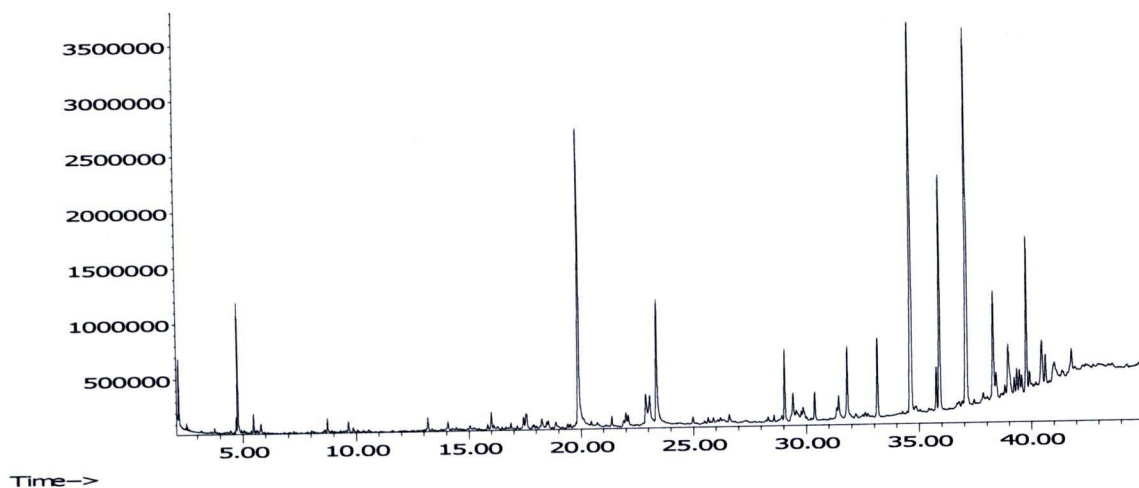
Abundance



Time-->

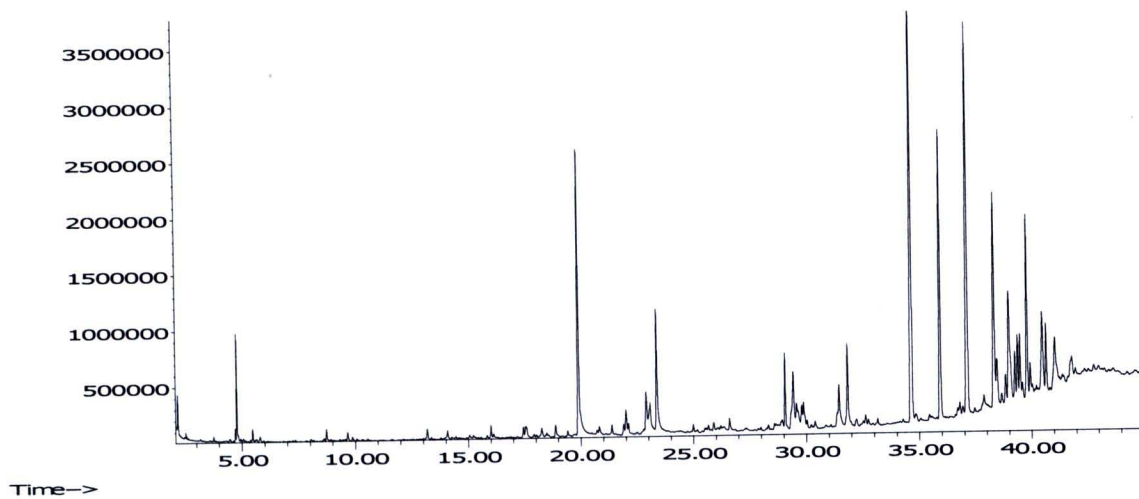
ภาพที่ 23 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Hexane ของพรอพอลิส จาก *T. laeviceps*

Abundance

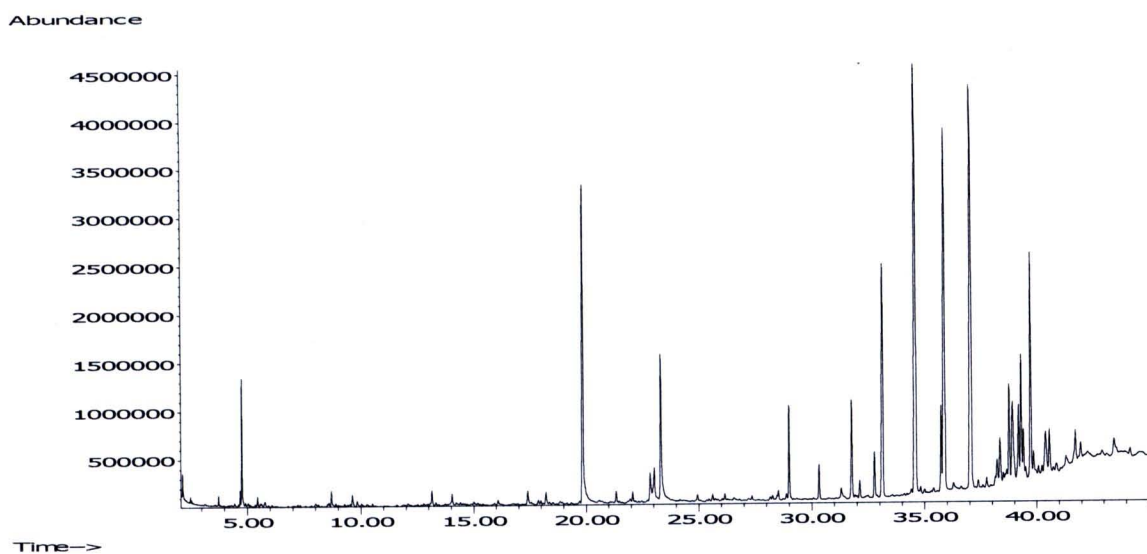


ภาพที่ 24 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Ethyl acetate ของพรอพอลิส จาก *T. laeviceps*

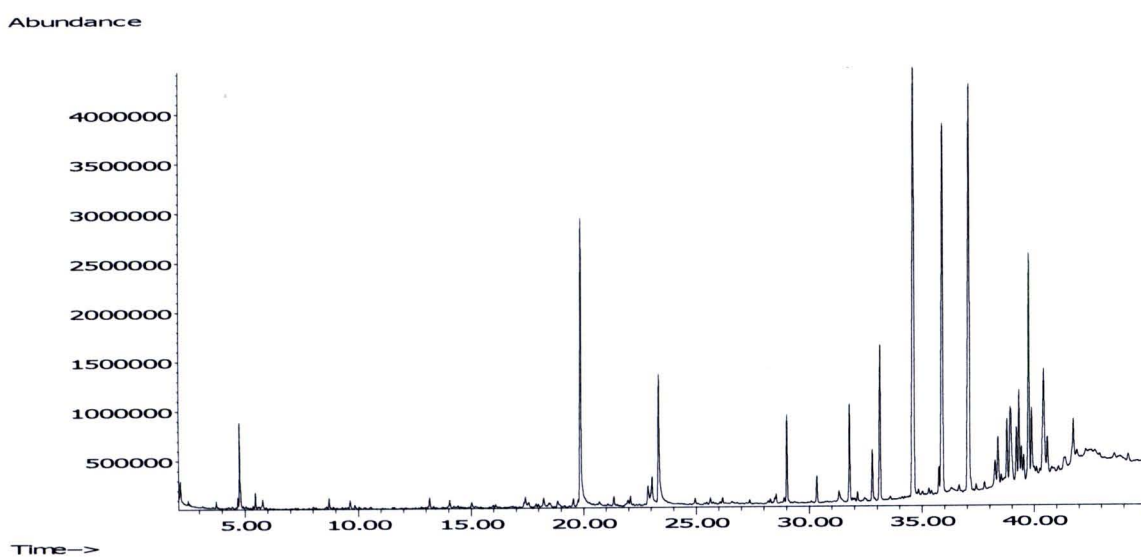
Abundance



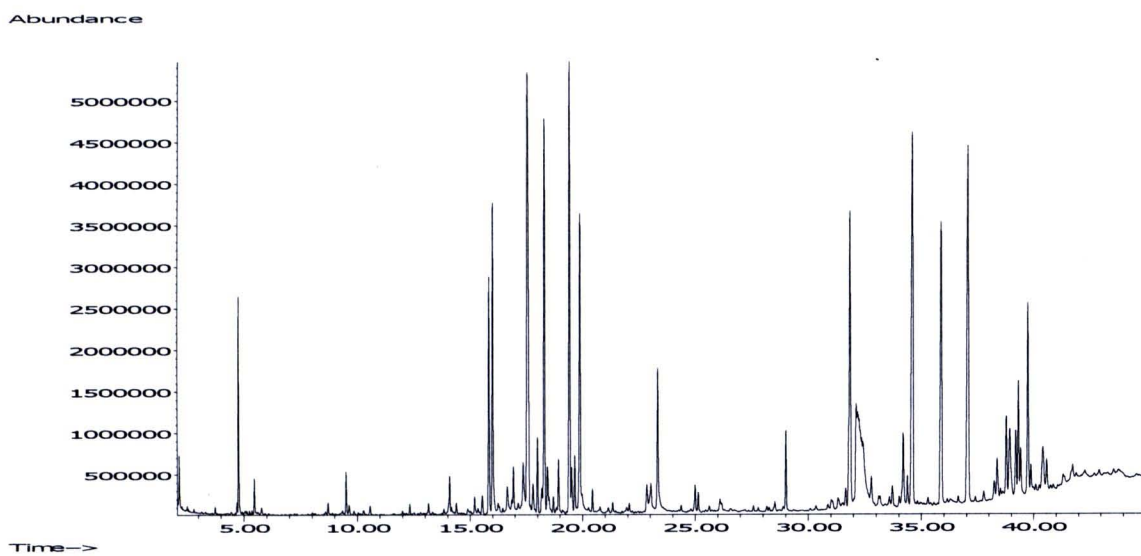
ภาพที่ 25 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Methanol ของพรอพอลิส จาก *T. laeviceps*



ภาพที่ 26 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Hexane ของพรอพอลิส จาก *T. terminata*



ภาพที่ 27 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Ethyl acetate ของพรอพอลิส จาก *T. terminata*



ภาพที่ 28 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Methanol ของพรอพออลิส จาก *T. terminata*