ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
249898

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาการเลี้ยงชันโรงเพื่อผลิตน้ำผึ้งสมุนไพร และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้

The Study of Stingless Bee Keeping for Medicinal Honey Production and The Biologically Active Compounds from it's Products

คณะผู้วิจัย

อรวรรณ ดวงภักดี ปรีชา รอดอิ่ม มนัญญา เพียรเจริญ และ สุภาวดี ชมภูพันธ์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ปีงบประมาณ 2553

ปีงบประมาณ 2553

ปีงบประมาณ 2553

ปีงบประมาณ 2553

b0025454b 24
ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
249898

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาการเลี้ยงชันโรงเพื่อผลิตน้ำผึ้งสมุนไพร และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้

The Study of Stingless Bee Keeping for Medicinal Honey Production and The Biologically Active Compounds from it's Products

คณะผู้วิจัย

อรวรรณ ดวงภักดี ปรีชา รอดอิ่ม มนัญญา เพียรเจริญ และ สุภาวดี ชมภูพันธ์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ปีงบประมาณ 2553

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2553 ขอขอบพระคุณ รศ. ดร. จันทร์เพ็ญ จันทร์เจ้า ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาจารย์ศุภลักษณ์ สุดขาว มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง ในข้อชี้แนะ ความช่วยเหลือและร่วมมืออย่างดียิ่งในการใช้เครื่องมือและทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์จากชันโรง ขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. เฉลิมชัย วงษ์อารี สายวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ขอบพระคุณ ดร. ธิติมา วงษ์ชีรี ที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะต่างๆ ตลอดช่วงการทำวิจัยและขอขอบพระคุณเกษตรกรทุกท่าน ที่กรุณาให้ความร่วมมือและใช้พื้นที่ในการศึกษาวิจัย จนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

คณะวิจัย

กรกฎาคม 2554

Abstract

249898

Honey from stingless bees has recently become of interest because of its medicinal properties. Comparisons of honey and propolis yields from four common species of stingless bee of Thailand (*Trigona pagdeni*, *Trigona laeviceps*, *Trigona terminata*, *Trigona fuscobalteata*) kept in the wooden boxes showed that the total yields from best to worst for honey production was *T. pagdeni*, *T. laeviceps, T. terminata* and then *T. fuscobalteata;* and for propolis *T. terminata*, *T. pagdeni*, *T. laeviceps* and *T. fuscobalteata* respectively.

The compositions of honey from three stingless bee species, *T. pegdeni*, *T.laeviceps* and *T. terminata*, collected from experimental areas in Ratchaburi province, Thailand were analyzed for apparent reducing sugar, calculated as invert sugar, moisture content, apparent sucrose, water insoluble solids, mineral (ash), acidity, diastase activity, hydroxymethylfurfural and food additives contents. The results revealed that stingless bee honey has free acidity and moisture content higher than maximum established for *A. mellifera* honey while total reducing sugars content were lower than a minimum established for *A. mellifera* honey.

Antimicrobial activity was assayed by agar well diffusion for products from *T. pagdeni*, *T. laeviceps* and *T. terminata* and paper disc diffusion for products from *T. laeviceps*. Honey and crude extracts of propolis was tested on *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Micrococcus aeruginosa* (gram + bacteria), *Escherichia coli* (gram - bacteria) and *Candida albicans* (yeast). The results presented that stingless bee honey show antimicrobial activity. Honey from *T. laeviceps* show the highest zone of inhibition against all tested microbes. Honey from *T. pagdeni*, *T. terminata* and *T. fuscobalteata* has no effect against *C. albicans*. The tested microbes also showed clear zone against extracts of propolis. Ethly acetate extracts of propolis were found to contain higher antimicrobial activity than hexane and methanol extracts. The microbial inhibition efficiency was various depending on the origin of products and the microbe species.

Ethly acetate extracts were further analyzed by partial purification using column chromatography and then characterized by GC-MS. Their mass spectra were compared with an existent spectrum library. As a result, four chemical groups were identified: diterpenoids, triterpenoids, long chained hydrocarbons and phenol derivatives. Moreover, about eighteen compounds which were found in significant quantities in the positive fractions could not be identified by comparison to the spectra contained within the reference library.

Keyword: Meliponiculture, Stinglessbee honey, Propolis, Inhibition zone, Biological active compounds

บทคัดย่อ

249898

ปัจจุบันน้ำผึ้งจากชันโรงได้รับความสนใจมากขึ้นเนื่องจากมีคุณสมบัติทางยาสูง ผลเปรียบเทียบการเลี้ยงชันโรงเพื่อเก็บผลผลิตจากชันโรง 4 ชนิดที่นิยมเลี้ยง คือ *Trigona pagdeni*, *Trigona laeviceps*, *Trigona terminata*, *Trigona fuscobalteata* โดยวิธีการเลี้ยงในกล่องไม้มาตรฐาน พบว่าปริมาณผลผลิตน้ำผึ้งเรียงตามลำดับจากมากไปหาน้อยคือ *T. pagdeni*, *T. laeviceps*, *T. terminata* และ *T. fuscobalteata* และปริมาณผลผลิตพรอพอลิสเรียงตามลำดับจากมากไปหาน้อย คือ *T. terminata*, *T. pagdeni*, *T. laeviceps* และ *T. fuscobalteata* ตามลำดับ

การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำผึ้งจากชันโรง 3 ชนิด *T. pagdeni*, *T. laeviceps* and *T. terminata*ที่เก็บได้จากพื้นที่วิจัยในจังหวัดราชบุรี โดยวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำผึ้งตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม คือ น้ำตาลรีดิวซิงคิดเป็นน้ำตาลอินเวิร์ต ความชื้น ซูโครส สารที่ไม่ละลายน้ำ เถ้า ความเป็นกรด ค่าไดแอสเตสแอกติวิตี ปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัล และวัตถุเจือปนอาหาร พบว่าน้ำผึ้งจากชันโรงมีความเป็นกรดและความชื้นสูงกว่ามาตรฐาน แต่มีน้ำตาลรีดิวซิงน้อยกว่ามาตรฐาน คุณลักษณะอื่นๆ ตรงตามเกณฑ์มาตรฐานตามที่กำหนด

ผลวิจัยประสิทธิภาพของน้ำผึ้งจาก *T. pagdeni*, *T. laeviceps* และ *T. terminata* ในการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบด้วยวิธีซึมผ่านของสารเข้าสู่เนื้อวุ้นและวิธีซึมผ่านของสารจากกระดาษกับเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* และ*Micrococcus aeruginosa* (แบคทีเรียแกรมบวก), *Escherichia coli* (แบคทีเรียแกรมลบ) และ *Candida albicans* (ยีสต์) พบว่าน้ำผึ้งจากชันโรงทั้ง 3 ชนิด แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี โดยน้ำผึ้งจากชันโรงชนิด *T. laeviceps* มีประสิทธิภาพสูงสุดและสามารถยั้บยั้งจุลินทรีย์ที่ทดสอบได้ทุกชนิด ในขณะที่น้ำผึ้งจาก *T. padgeni*, *T. terminata* และ *T. fuscobalteata* ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ได้ ในส่วนของสารสกัดพรอพอลิสพบว่าสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี โดยสารสกัดเอทิลอะซิเตตแสดงประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อเทียบกับสารสกัดเฮกเซนและเมทานอล พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์มีความหลากหลายขึ้นอยู่กับลักษณะพื้นที่ที่เลี้ยงเพื่อเก็บผลิตภัณฑ์และชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

การนำสารสกัดเอทิลอะซิเตตมาแยกต่อด้วยวิธีโครมาโทรกราฟีแบบคอลัมน์ และวิเคราะห์องค์ประกอบในส่วนย่อยที่แสดงฤทธิ์โดยใช้ GC-MS แล้วเปรียบเทียบกับสเปกตรัมในฐานข้อมูล พบว่าประกอบด้วยสารกลุ่ม ไดเทอร์ปินอยด์ ไตรเทอร์ปินอยด์ ไฮโดรคาร์บอนโซ่ยาว และอนุพันธ์ของฟีนอล และยังมีสารอีกประมาณ 18 ชนิดที่พบในปริมาณมากอย่างมีนัยสำคัญแต่ยังไม่สามารถระบุชนิดได้

คำสำคัญ: การเลี้ยงชันโรง, น้ำผึ้งชันโรง, พรอพอลิส, ขอบเขตการยับยั้ง, สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

		หน้า
กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)		ก
บทคัดย่อ		ข
สารบัญเรื่อง (Table of Contents)		ง
สารบัญตาราง (List of Tables)		ฉ
สารบัญภาพ (List of Illustrations)		ช
บทที่ 1	**บทนำ (Introduction)**	1
บทที่ 2	**วิธีดำเนินการวิจัย (Materials and Methods)**	5
2.1	ศึกษาพันธุ์ของชันโรงที่มีความเหมาะสมต่อการนำมาเลี้ยงเพื่อเก็บผลผลิต	5
2.2	วิเคราะห์น้ำผึ้งจากชันโรงเพื่อสร้างมาตรฐานสู่ท้องตลาด	8
2.3	ศึกษาองค์ประกอบและคุณสมบัติทางเคมีที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้จากชันโรง	8
2.4	การอบรมถ่ายทอดเทคโนโลยีให้เกษตรกรผู้เลี้ยงชันโรง	12
บทที่ 3	**ผลการวิจัย (Results)**	13
3.1	สายพันธุ์ชันโรงที่เหมาะสมจะนำมาเลี้ยงเพื่อเก็บผลผลิต	13
	3.1.1 สายพันธุ์ชันโรงที่เลี้ยงในประเทศไทย	13
	3.1.2 ชีววิทยาของชันโรงแต่ละชนิดและลักษณะพื้นที่วิจัย	14
	3.1.3 การเจริญเติบโตของรังชันโรงการวิเคราะห์ด้วยวิธี Image Analysis	16
	3.1.4 ผลผลิตที่ได้	17
3.2	การวิเคราะห์น้ำผึ้งจากชันโรงเพื่อสร้างมาตรฐานสู่ท้องตลาด	19
3.3	ผลการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในน้ำผึ้งและพรอพอลิสจากชันโรง	21
	3.3.1 ลักษณะทางกายภาพของน้ำผึ้งและสารสกัดพรอพอลิส	21
	3.3.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Agar Diffusion Assay	21
	3.3.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Paper disc diffusion assay	24
3.4	ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ต่อแบคทีเรียก่อโรคจากการแยกแฟรกชัน	25
3.5	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค	25
บทที่ 4	**ข้อวิจารณ์ (Discussion)**	39
4.1	สายพันธุ์ชันโรงที่เหมาะสมจะนำมาเลี้ยงเพื่อเก็บผลผลิต	39
4.2	คุณสมบัติของน้ำผึ้งชันโรง	40
4.3	ผลการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในน้ำผึ้งและพรอพอลิสจากชันโรง	41

หน้า

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Recommendation) 43

เอกสารอ้างอิง (References)

ภาคผนวก (Appendix)

สารบัญตาราง (List of Tables)

		หน้า
ตารางที่ 1	ผลการวิเคราะห์น้ำผึ้งจากชันโรงตามมาตรฐานอุตสาหกรรม	20
ตารางที่ 2	แสดงค่า MIC (mg/ml) และ MBC (mg/ml) ของสารสกัดในแต่ละกลุ่มตัวทำละลายที่แยกได้หลังการทำ partition ด้วยกรวยแยก	25
ตารางที่ 3	องค์ประกอบเคมีที่วิเคราะห์ได้จากสารสกัดพรอพอลิสชันโรงที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์	26
ตารางที่ 4	พฤติกรรมการทำรังของชันโรงแต่ละชนิดที่สำรวจได้ (พณัญญา พบสุข และ สาวิตรี มาไลยพันธุ์, 2550)	40

สารบัญภาพ (List of Illustrations)

		หน้า
ภาพที่ 1	พื้นที่ทดลองบริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี วิทยาเขตราชบุรี	5
ภาพที่ 2	พื้นที่ทดลองบริเวณบ้านที่ทำการเลี้ยงชันโรง บ้านรางบัว ต.รางบัว อ. จอมบึง จ. ราชบุรี	6
ภาพที่ 3	พื้นที่บริเวณสวนเกษตรของเกษตรกร บ้านระฆังทอง ต.เขาชะงุ้ม อ.โพธาราม จ.ราชบุรี	6
ภาพที่ 4	พื้นที่บริเวณรีสอร์ทบ้านสวนหงษ์เหิร	7
ภาพที่ 5	แสดงการติดแผ่นพลาสติกคลุมด้านบนของรัง	7
ภาพที่ 6	น้ำผึ้งจากชันโรง	8
ภาพที่ 7	แสดงลักษณะทั่วไปของ *T. pagdeni* (ก) ปากทางเข้ารังของ (ข) กลุ่มตัวอ่อนและดักแด้ เซลล์เก็บเกสร และน้ำหวาน	14
ภาพที่ 8	แสดงลักษณะทั่วไปของ *T. laeviceps* (ก) ปากทางเข้ารังของ (ข) กลุ่มตัวอ่อนและดักแด้ เซลล์เก็บเกสร และน้ำหวาน	15
ภาพที่ 9	แสดงลักษณะทั่วไปของ *T. terminata* แสดงลักษณะ (ก) ปากทางเข้ารัง (ข) กลุ่มตัวอ่อนและดักแด้ เซลล์เก็บเกสร และน้ำหวาน	15
ภาพที่ 10	แสดงลักษณะทั่วไปของ *T. fuscobalteata* แสดงลักษณะ (ก) ปากทางเข้ารัง (ข) กลุ่มตัวอ่อนและดักแด้ เซลล์เก็บเกสร และน้ำหวาน	16
ภาพที่ 11	แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาตรเซลล์ไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ น้ำหวานและเกสร (Gt Index) ของรังทุก 2 สัปดาห์ ตลอดช่วงการเลี้ยง 3 เดือน	16
ภาพที่ 12	แสดงการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักรังทุก 2 สัปดาห์ ตลอดช่วงการเลี้ยง 3 เดือน	17
ภาพที่ 13	ผลผลิตที่ได้จากชันโรง	18
ภาพที่ 14	น้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยที่เก็บได้ น้ำผึ้ง (honey) และพรอพอลิส (propolis) จากชันโรงทั้ง 4 ชนิด	18
ภาพที่ 15	ขอบเขตการยับยั้ง (clear zone) จากการทดสอบด้วยน้ำผึ้งจากชันโรง 3 ชนิด (ด้วยวิธี agar diffusion assay)	21
ภาพที่ 16	ขอบเขตการยับยั้ง (clear zone) จากการทดสอบด้วยสารสกัดหยาบพรอพอลิสจากชันโรงชนิด *T. pagdeni*	22
ภาพที่ 17	ขอบเขตการยับยั้ง (clear zone) จากการทดสอบด้วยสารสกัดหยาบพรอพอลิสจากชันโรงชนิด *T. laeviceps*	23
ภาพที่ 18	ขอบเขตการยับยั้ง (clear zone) จากการทดสอบด้วยสารสกัดหยาบพรอพอลิสจากชันโรงชนิด *T. terminata*	24
ภาพที่ 19	ขอบเขตการยับยั้ง (clear zone) จากการทดสอบด้วยน้ำผึ้งจากชันโรง *T. laeviceps* (ด้วยวิธี paper disc diffusion assay)	24

หน้า

ภาพที่ 20 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Hexane ของพรอพอลิส จาก *T. pagdeni* 34
ภาพที่ 21 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Ethly acetate ของพรอพอลิส จาก *T. pagdeni* 34
ภาพที่ 22 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Methanol ของพรอพอลิส จาก *T. pagdeni* 35
ภาพที่ 23 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Hexane ของพรอพอลิส จาก *T. laeviceps* 35
ภาพที่ 24 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Ethly acetate ของพรอพอลิส จาก *T. laeviceps* 36
ภาพที่ 25 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Methanol ของพรอพอลิส จาก *T. laeviceps* 36
ภาพที่ 26 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Hexane ของพรอพอลิส จาก *T. terminata* 37
ภาพที่ 27 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Ethyl acetate ของพรอพอลิส จาก *T. terminata* 37
ภาพที่ 28 โครมาโตแกรมของ สารสกัด Methanol ของพรอพอลิส จาก *T. terminata* 38