



การพัฒนาอาหารเสริมสำเร็จรูปสำหรับชั้นโรงخنเงิน

นาย ธนาธิป สิทธิศร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชากระบวนการอุตสาหกรรมเคมีและสิ่งแวดล้อม

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

ปีการศึกษา 2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

การพัฒนาอาหารเสริมสำเร็จรูปสำหรับชั้นโรงเรียน



นายธนธิป สิริศิริ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการบริหารอุตสาหกรรมการค้าและสิ่งแวดลอม

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

ปีการศึกษา 2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

เรื่อง การพัฒนาอาหารเสริมสำเร็จรูปสำหรับชั้นโรงخنเงิน

โดย นาย ธนาธิป สิริศิริ

ได้รับอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากระบวนการอุตสาหกรรมเคมีและสิ่งแวดล้อม

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ จันทน์วิวัฒน์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วันกุล ชนะสิทธิ์)

กรรมการ

(อาจารย์ดร.จักรวาล ไม้ทิพย์)

กรรมการ

(อาจารย์ ดร.สุนิสา อึ้งวิวัฒน์กุล)

ชื่อ : ธนาธิป สติธิศร
 ชื่อวิทยานิพนธ์ : การพัฒนาอาหารเสริมสำเร็จรูปสำหรับชั้นโรงخنเงิน
 สาขาวิชา : กระบวนการอุตสาหกรรมเคมีและสิ่งแวดล้อม
 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
 อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อาจารย์ดร.จักราวุธ ไม้ทิพย์
 ปีการศึกษา : 2567

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของอาหารเสริมต่อชั้นโรงخنเงิน (*Tetragonula pagdeni* Schwarz) เพื่อแก้ปัญหาการล่มสลายของรัง อันเกิดจากภาวะขาดแคลนอาหาร การผ่าแยกขยายรังที่มากเกินไป และการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ส่งผลต่อปริมาณและคุณภาพของแหล่งอาหาร ทำให้ชั้นโรงอ่อนแอ อัตราการวางไข่ของนางพญาลดลง และอาจนำไปสู่การล่มสลายของรัง การศึกษานี้ทดสอบอาหารเสริมชนิดต่าง ๆ ผ่านการทดลองในสองระดับ ได้แก่ การทดลองในห้องปฏิบัติการ และภาคสนาม ผลการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่า อาหารเสริม A2 ให้ผลลัพธ์ที่ดีที่สุด โดยมีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยร้อยละ 56.67 ± 0.58 ขนาดต่อมไฮโปฟาริงจ์เฉลี่ยร้อยละ 45.23 ± 1.50 ไมโครเมตร และปริมาณไขมันสะสมในร่างกายเฉลี่ย 0.10 ± 0.01 มิลลิกรัม ต่อชั้นโรงหนึ่งตัว สำหรับการทดลองภาคสนาม รังที่ได้รับอาหารเสริม A2 มีสภาพรังที่ดีขึ้นอย่างชัดเจน โดยจำนวนไข่อ่อนเพิ่มขึ้นร้อยละ 27.73 - 53.39 และจำนวนไข่แก่เพิ่มขึ้นร้อยละ 21.79 - 81.75 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ รังที่ได้รับอาหารเสริม A2 ยังให้ผลผลิตน้ำผึ้งมากกว่าชุดควบคุม 1.96 - 2.73 เท่า ผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า อาหารเสริมสูตร A2 สามารถช่วยบรรเทาผลกระทบจากภาวะขาดแคลนอาหารที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ และช่วยลดการล่มสลายของรัง แนวทางนี้อาจเป็นประโยชน์ต่อการเลี้ยงชันโรงอย่างยั่งยืน และยังเป็นแนวทางให้ผู้เลี้ยงชันโรงสามารถนำไปปรับใช้ได้

คำสำคัญ : ชันโรงخنเงิน, อาหารเสริมสำหรับชันโรง, การขาดแคลนอาหาร, การเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Name : TANATIP SITTISORN
Thesis Title : Development of instant supplementary diet for stingless bee
(*Tetragonula pagdeni* Schwarz)
Major Field : Chemical Industrial Process and Environment
King Mongkut's University of Technology North Bangkok
Thesis Advisor : Dr.JAKKRAWUT MAITIP
Academic Year : 2024

Abstract

This research investigates the effects of a supplementary diet for stingless bees (*Tetragonula pagdeni* Schwarz) to address colony collapse issues caused by food shortages, high colony splitting, and climate change. These factors affect the availability and quality of bee forage, leading to weakened colonies, reduced queen egg-laying rates, and, ultimately, colony collapse. This study tested different supplemental diets at two levels: laboratory and field experiments. In the laboratory study, the A2 diet showed the most satisfying results, with an average survival rate of $56.67 \pm 0.58\%$, hypopharyngeal gland size of $45.23 \pm 1.50 \mu\text{m}$, and body fat content of $0.10 \pm 0.01 \text{ mg}$ per bee. In the field study, colonies fed with the A2 diet showed significantly improved colony conditions, with an increase of 27.73 - 53.39% in young eggs and 21.79 - 81.75% in mature eggs compared to control colonies. Moreover, the honey production of colonies supplemented with A2 was 1.96 - 2.73 times higher than control colonies. These findings suggest that the A2 supplementary diet can mitigate food shortages driven by climate change and minimise colony losses. This approach could benefit sustainable stingless beekeeping practices, encouraging and motivating beekeepers to adopt this promising solution.

Keyword : *Tetragonula pagdeni*, supplementary diet, food shortages, climate change

Advisor

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี จากความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดีจาก อาจารย์ ดร.จักรวาล ไม้ทิพย์ อาจารย์ที่ปรึกษา และ อาจารย์ ดร.สุนิสา อึ้งวิวัฒน์กุล สำหรับคำแนะนำที่มี คุณค่า การสนับสนุน และข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ตลอดระยะเวลาการทำวิจัย ท่านอาจารย์เป็นแรงบันดาลใจสำคัญในการกำหนดทิศทางการศึกษาในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วันกุล ชนะสิทธิ์ประธานกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ซึ่งกรุณาสละเวลาตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ของ วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์ พลังงานและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ วิทยาเขตระยอง ที่ให้การสนับสนุนทั้งด้าน ทรัพยากรและงบประมาณในการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้ รวมทั้งขอขอบคุณบุคลากรจาก ScieeBeeLab ที่ให้ความช่วยเหลือและความร่วมมือในระหว่างการทำวิจัย ขอขอบคุณครอบครัวและเพื่อนๆ ที่ให้การ สนับสนุนทั้งด้านกำลังใจและความเข้าใจในทุก ช่วงเวลาของการทำวิจัยครั้งนี้ ความรักและการสนับสนุน จากทุกท่านมีความสำคัญอย่างยิ่งในการทำ ให้ข้าพเจ้าเดินมาถึงจุดนี้ได้ สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณทุก ท่านที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาในครั้งนี้ ไม่ว่าจะเป็นผู้ที่ช่วยเหลือในการเก็บข้อมูลหรือให้ข้อเสนอแนะที่ดีๆ ในการทำวิจัยนี้

ธนาธิป สิริทศ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฎ
สารบัญรูปภาพ.....	ฐ
1. บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
2. บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ข้อมูลทั่วไปของชั้นโรง	4
2.1.1 ชนิดและการแพร่กระจายของชั้นโรง	4
2.1.2 วรรณะของชั้นโรง.....	6
2.1.3 วงจรชีวิตของชั้นโรง.....	7
2.1.4 องค์ประกอบภายในรัง	8
2.1.5 ศัตรูของชั้นโรง.....	9
2.1.6 น้ำผึ้งชั้นโรง.....	10
2.1.7 พารามิเตอร์การวิเคราะห์คุณภาพน้ำผึ้งชั้นโรง.....	14
2.1.8 ฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระ	14

2.1.9 จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารที่มักพบในน้ำผึ้งและน้ำผึ้งชันโรง	17
2.2 ความสัมพันธ์ทางชีวภาพระหว่างชันโรงกับเชื้อจุลินทรีย์.....	21
2.3 ปัญหาของการเลี้ยงชันโรงในประเทศไทย	23
2.4 อาหารของชันโรง	23
2.4.1 อาหารของชันโรงในธรรมชาติ.....	23
2.4.2 อาหารเสริมสำหรับชันโรง.....	24
2.4.3 ส่วนประกอบของอาหารเสริมสำหรับชันโรง	28
2.5 การเพาะเลี้ยงแมลงในห้องปฏิบัติการ	31
2.5.1 กรงสำหรับการเลี้ยงผึ้งในห้องปฏิบัติการ	31
2.5.2 กรงที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงผึ้งในห้องปฏิบัติการ	32
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	37
3. บทที่ 3 วิธีการวิจัย.....	39
3.1 สารเคมี อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	39
3.1.1 สารเคมี.....	39
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ	39
3.2 ปรับปรุงดาร์บอาหารเสริมให้เหมาะสมกับชันโรงขงเงิน	40
3.3 การเตรียมชันโรงขงเงินเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเสริมต่อชันโรงขงเงินใน ระดับห้องปฏิบัติการ	41
3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเสริมต่อชันโรงขงเงินในห้องปฏิบัติการ	42
3.4.1 อัตราการรอดชีวิตของชันโรงขงเงิน.....	42
3.4.2 ขนาดของต่อมไฮโปฟาริงจ์ (hypopharyngeal gland: HPGs).....	42
3.4.3 การวัดปริมาณไขมันในช่องท้องของชันโรง (Aneta et.al, 2021).....	43
3.5 การทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเสริมต่อชันโรงขงเงินในระดับภาคสนาม	44

3.6 การทดสอบความปลอดภัยในด้านของ ปริมาณโลหะหนักทั้ง 6 ชนิด และ ทางด้านจุลชีววิทยาน้ำฝิ่งชั้นโรงขนเงิน.....	44
3.7 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของน้ำฝิ่งชั้นโรงขนเงิน	45
3.7.1 การตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH).....	45
3.7.2 การตรวจวัดปริมาณของแข็งละลาย.....	45
3.7.3 การตรวจวัดความชื้น.....	45
3.7.4 การตรวจวัดค่าสีของน้ำฝิ่ง	45
3.8 การศึกษาสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำฝิ่งชั้นโรงขนเงินของชั้นโรงขนเงิน (ดัดแปลงจาก Campos et al., 2021)	46
3.8.1 การเตรียมเชื้อ	46
3.8.2 การเตรียมตัวอย่าง	47
3.8.3 การทดสอบสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc Diffusion	47
3.9 การศึกษาสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำฝิ่งชั้นโรงขนเงินและชั้นของชั้นโรงขนเงิน	47
3.9.1 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging (ดัดแปลงจาก Chen et al., 2007)	47
3.9.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS radical scavenging (ดัดแปลงจาก Saeio et al., 2011).....	48
3.10 การหาน้ำตาลทรีฮาโลส (Trehalulose) ด้วยเทคนิค MS Q-TOF (Fletcher et al., 2020) ..	48
3.10.1. วิธีเตรียมตัวอย่าง	48
3.10.2 UHPLC condition	49
3.10.3 MS Q-TOF condition	49
3.11 การวิเคราะห์พืชอาหารในน้ำฝิ่งชั้นโรงขนเงินด้วยลักษณะทางเรณูวิทยา (ดัดแปลงจาก Thakodee et al., 2018)	50
4. บทที่ 4 ผลการวิจัย	52

4.1 การศึกษาผลของอาหารเสริมให้เหมาะสมกับชั้นโรงขนเงิน	52
4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงขนเงินในห้องปฏิบัติการ.....	56
4.2.1 ผลการศึกษาอัตราการรอดชีวิตของชั้นโรงขนเงิน.....	56
4.2.2 ผลการศึกษาอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงขนเงินต่อการพัฒนาของต่อมไฮโปฟาลิงซ์	58
4.2.3 ผลการศึกษาปริมาณไขมันในช่องท้องของชั้นโรงขนเงิน	35
4.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของอาหารเสริมในระดับภาคสนาม	37
4.4 ผลการศึกษาสมบัติทางกายภาพของน้ำฝิ่งชั้นโรงขนเงิน	46
4.4 ผลการศึกษาความปลอดภัย ได้แก่ ปริมาณโลหะหนัก 6 ชนิด และ ทางด้านจุลชีววิทยาน้ำฝิ่ง ชั้นโรงขนเงิน.....	47
4.5 ผลการศึกษาสมบัติในการยับยั้งจุลชีพในน้ำฝิ่งชั้นโรงขนเงิน	49
4.6 ผลการศึกษาสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำฝิ่งชั้นโรงขนเงิน.....	50
4.7 ผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสในตัวอย่างน้ำฝิ่งชั้นโรง.....	50
4.8 ผลการศึกษาพืชอาหารของชั้นโรงโดยวิธีทางเรณูวิทยา	51
4.9 ผลการศึกษาการวิเคราะห์ต้นทุนของอาหารเสริม	59
5. บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง	61
5.1 ผลของอาหารเสริมต่อการชั้นโรงขนเงินในห้องปฏิบัติการ	61
5.2 ผลของอาหารเสริมต่อการชั้นโรงขนเงินในระดับภาคสนาม.....	62
5.3 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของน้ำฝิ่งชั้นโรง.....	63
5.4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัยของน้ำฝิ่งชั้นโรง	63
5.5 ผลการวิเคราะห์สมบัติในการยับยั้งจุลชีพและสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำฝิ่งชั้นโรง	63
5.6 ผลการวิเคราะห์ต้นทุนของอาหารเสริม	64
5.7 สรุปผลการทดลอง.....	64
5.8 ข้อเสนอแนะ	65

บรรณานุกรม	67
ประวัติผู้เขียน	73
ภาคผนวก	75



สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2-1 การเปรียบเทียบกับมาตรฐานน้ำดื่มประเทศไทยและน้ำดื่มชั้นโรงประตมาเลเซีย...	21
ตารางที่ 2-2 อาหารเสริมสำหรับผึ้งพันธุ์	26
ตารางที่ 3-1 แสดงค่าช่วงสี และค่า Pfund ของน้ำดื่มชั้นโรง	46
ตารางที่ 3-2 Timetable	49
ตารางที่ 3-3 Targeted Mass table	50
ตารางที่ 4-1 องค์ประกอบต่าง ๆ และราคาวัตถุดิบของสูตรอาหารสำหรับชั้นโรงขนเงินที่ใช้ในการวิจัย	53
ตารางที่ 4-2 ลักษณะทางกายภาพของอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงขนเงินสูตร A2 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน.....	55
ตารางที่ 4-3 แสดงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงขนเงิน	56
ตารางที่ 4-4 ภาพถ่ายของ HPGs ของชั้นโรงขนเงินที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมชนิดต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า	35
ตารางที่ 4-5 การเปลี่ยนแปลงภายในรังชั้นโรงขนเงินชุดควบคุมที่ไม่ได้รับอาหารเสริมสูตร A2 ภายใต้การทดสอบในระดับภาคสนาม ในพื้นที่จังหวัดระยองและจังหวัดสมุทรปราการ เป็นเวลา 28 วัน ในช่วงฤดูฝน (ตุลาคม - พฤศจิกายน)	40
ตารางที่ 4-6 การเปลี่ยนแปลงภายในรังชั้นโรงขนเงินเมื่อได้รับการให้อาหารเสริมสูตร A2 ภายใต้การทดสอบในระดับภาคสนาม ในพื้นที่จังหวัดระยองและจังหวัดสมุทรปราการ เป็นเวลา 28 วัน ในช่วงฤดูฝน (ตุลาคม - พฤศจิกายน)	42
ตารางที่ 4-7 แสดงพื้นที่ที่เพิ่มขึ้นขององค์ประกอบของรังชั้นโรงขนเงินที่ทำการทดสอบในระดับภาคสนาม (ร้อยละ).....	45
ตารางที่ 4-8 แสดงผลของค่า pH อุณหภูมิ ปริมาณของแข็งละลาย ค่าสี และปริมาณความชื้น	46
ตารางที่ 4-9 ผลการวิเคราะห์โลหะ 6 ชนิดในตัวอย่างน้ำดื่มชั้นโรงขนเงินด้วยเครื่อง ICP-OES.....	47

ตารางที่ 4-10 ผลการวิเคราะห์ความปลอดภัยด้านจุลชีววิทยาของน้ำฝั้งชั้นโรงขนเงิน.....	48
ตารางที่ 4-11 แสดงผลการทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำฝั้งชั้นโรงด้วยวิธี Agar disc diffusion assay.....	49
ตารางที่ 4-12 แสดงผลการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระของน้ำฝั้งชั้นโรงด้วยวิธี DPPH radical scavenging และวิธี ABTS radical scavenging	50
ตารางที่ 4-13 แสดงปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสที่พบในตัวอย่างน้ำฝั้งโดยเทคนิค MS Q-TOF	51
ตารางที่ 4-14 แสดงการศึกษาพืชอาหารของชั้นโรงโดยวิธีทางเรณูวิทยาโดยแสดงชนิดของพืชเกสรเด่นและพืชเกสรรองของน้ำฝั้งชั้นโรงขนเงิน.....	52
ตารางที่ 4-15 ต้นทุนอาหารเสริมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงชั้นโรง 100 กรัม	59
ตารางที่ 4-16 แสดงต้นทุนอาหารเสริมแต่ละสูตรที่ฝั้งชั้นโรงใช้จริง ในระยะเวลา 1 เดือน.....	60



สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2-1 การกระจายตัวของชั้นโรง.....	5
ภาพที่ 2-2 วรรณะต่าง ๆ ของชั้นโรง.....	6
ภาพที่ 2-3 วงจรชีวิต (life cycle) ของชั้นโรงงาน Tetragonula pagdeni	7
ภาพที่ 2-4 แสดงองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในรังของชั้นโรง	8
ภาพที่ 2-5 มด คัดรูตามธรรมชาติของชั้นโรง.....	9
ภาพที่ 2-6 แสดงกระบวนการการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลซูโครสเป็นทรีฮาโลส	11
ภาพที่ 2-7 กลไกการสร้าง Trehalulose และ Erlose โดยชั้นโรงผ่านตัวกลาง β -D-glucosyl-enzyme	12
ภาพที่ 2-8 โครงสร้างทางเคมีของสาร ABTS.....	16
ภาพที่ 2-9 ชั้นโรงใช้ตระกร้าเก็บเกสรที่อยู่บริเวณขาคู่หลังในการเก็บเกสรดอกไม้.....	24
ภาพที่ 2-10 แสดงลักษณะของต่อมไฮโปฟาริงซ์ของชั้นโรงในระยะต่าง ๆ	26
ภาพที่ 2-11 เกสรผึ้ง	28
ภาพที่ 2-12 กากถั่วเหลืองไม่กะเทาะเปลือก.....	29
ภาพที่ 2-13 กากถั่วเหลืองกะเทาะเปลือก.....	30
ภาพที่ 2-14 กรงเลี้ยงผึ้งแบบมีกรอบ (frame cage).....	32
ภาพที่ 2-15 กรงเลี้ยงผึ้งแบบดั้งเดิม	33
ภาพที่ 2-16 กรงเลี้ยงแบบถั่ว.....	33
ภาพที่ 2-17 กรงเลี้ยงที่ดัดแปลงจากติชไนซ์คลาสสิก.....	34
ภาพที่ 2-18 ภาชนะสำหรับเลี้ยงผึ้งพันธุ์ที่ประกอบด้วยหลอดใส่ออาหาร	35
ภาพที่ 2-19 ภาชนะเลี้ยงผึ้งที่ปรับใช้งานวิจัยนี้	35
ภาพที่ 3-1 การเลี้ยงชั้นโรงภายใต้ห้องปฏิบัติการ	42

ภาพที่ 3-2 ขั้นตอนการศึกษาขนาดของต่อม HPGs.....	43
ภาพที่ 4-1 ลักษณะทางกายภาพของอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงขนเงินสูตรต่าง ๆ.....	54
ภาพที่ 4-2 แสดงอัตราการรอดชีวิตของชั้นโรงขนเงินตัวเต็มวัยที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมชนิดต่าง ๆ....	57
ภาพที่ 4-3 ขนาด acini เฉลี่ยของชั้นโรงขนเงินที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมชนิดต่าง ๆ	59
ภาพที่ 4-4 ปริมาณไขมันในช่องท้องเฉลี่ยของชั้นโรงขนเงินที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมชนิดต่าง ๆ (มีลิลกรัมต่อตัว)	36
ภาพที่ 4-5 อาหารเสริมสำหรับชั้นโรงขนเงินสูตร A2 ที่แบ่งใส่ถุงพอยด์ขนาดเล็กที่ปิดสนิท.....	37
ภาพที่ 4-6 พื้นที่ทดลองภาคสนาม	38
ภาพที่ 4-7 ภาพถ่ายของละอองเรณูที่พบในตัวอย่างน้ำผึ้งชั้นโรงรหัส RY-C ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ กำลังขยาย 400 เท่า.....	53
ภาพที่ 4-8 ภาพถ่ายของละอองเรณูที่พบในตัวอย่างน้ำผึ้งชั้นโรงรหัส RY-T ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ กำลังขยาย 400 เท่า.....	53
ภาพที่ 4-9 ภาพถ่ายของละอองเรณูที่พบในตัวอย่างน้ำผึ้งชั้นโรงรหัส SP-C ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ กำลังขยาย 400 เท่า.....	54
ภาพที่ 4-10 ภาพถ่ายของละอองเรณูที่พบในตัวอย่างน้ำผึ้งชั้นโรงรหัส SP-T ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 400 เท่า.....	54
ภาพที่ 4-11 ภาพถ่ายของละอองเรณูที่พบในตัวอย่างน้ำผึ้งชั้นโรงรหัส KK-T ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 400 เท่า.....	55
ภาพที่ 4-12 แสดงปฏิทินดอกไม้บานในพื้นที่จังหวัดระยอง.....	56
ภาพที่ 4-13 แสดงปฏิทินดอกไม้บานในพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการ	57
ภาพที่ 4-14 แสดงปฏิทินดอกไม้บานในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น	58

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ผึ้งจิ๋วหรือชันโรง (Stingless bee) เป็นแมลงสังคมขนาดเล็กจัดอยู่ในอันดับ Hymenoptera อยู่ในวงศ์ Apidae ชันโรงเป็นแมลงสังคม มีการแบ่งหน้าที่ภายในรังอย่างเป็นระบบ โดยภายในรังแบ่งเป็นวรรณะต่าง ๆ โดยแต่ละวรรณะทำหน้าที่แตกต่างกันไปตามความเป็นอยู่ ภายในสังคมชันโรงแบ่งเป็น 3 วรรณะ ได้แก่ ชันโรงนางพญา (Queen) ชันโรงงาน (Worker) และชันโรงเพศผู้ (Drone) โดยชันโรงงานจะทำหน้าที่ทุกอย่างภายในรัง ชันโรงมีขนาดเล็ก มีปีกสามคู่ที่แข็งแรง มีต่อมไขที่ส่วนท้อง เส้นปีกมีไม่มาก และไม่มีเหล็กใน จึงไม่ทำอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยง ขนาดตัวของชันโรงโดยเฉลี่ยมีขนาดเล็กกว่าผึ้งประมาณ 2 – 3 เท่า ชันโรงเป็นแมลงเก็บน้ำหวานที่มีประโยชน์ต่อระบบนิเวศและการเกษตรเนื่องจากมีขนาดเล็ก มีพฤติกรรมเก็บน้ำหวานจากดอกไม้และละอองเรณูของพืชมาใช้เป็นอาหารเช่นเดียวกับผึ้งแต่ไม่เลือกตอมดอกไม้ ชันโรงจึงมีความสามารถในการเป็นแมลงผสมเกสร เพื่อเพิ่มผลผลิตพืชเศรษฐกิจต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดีมีประสิทธิภาพ (พิชญาดา เจริญจิต, 2562) ชันโรงพบได้ทั่วไปในพื้นที่เขตร้อนและเขตกึ่งร้อน รายงานการสำรวจทั่วโลกพบว่ามีชันโรงมากกว่า 500 ชนิด และในประเทศไทยพบชันโรงมากกว่า 40 ชนิด แต่ละชนิดมีการกระจายตัวต่างกันในแต่ละพื้นที่ขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งอาหาร สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ และระดับความสูงของพื้นที่อาศัยจากระดับน้ำทะเล (สมนึก และอรุณรัตน์, 2549)

ปัจจุบัน ชันโรงจัดเป็นสัตว์เศรษฐกิจในกลุ่มแมลงที่มีความสำคัญส่งผลให้การเลี้ยงชันโรงในประเทศไทย ได้รับความสนใจจากเกษตรกร และผู้ที่สนใจจำนวนมาก เนื่องจากความต้องการของผลิตภัณฑ์จากชันโรงได้แก่ น้ำผึ้งชันโรง และชัน มีเป็นจำนวนมาก และได้รับการตอบรับที่ดีจากผู้บริโภค จากการสำรวจของกรมส่งเสริมการเกษตร พบว่าจำนวนของเกษตรกรผู้เลี้ยงชันโรงในประเทศไทยเพิ่มขึ้น โดยในปี พ.ศ.2565 มีจำนวน 3,881 ราย เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2557 กว่าร้อยละ 554 ปัจจุบันทั่วประเทศไทยมีจำนวนรังชันโรงกว่า 27,829 รัง มีผลผลิตเฉลี่ย 300-500 กรัมต่อรังต่อปี ซึ่งการขยายตัวอย่างรวดเร็วของการเลี้ยงชันโรงเนื่องจากมีจุดเด่นในหลาย ๆ ด้าน ได้แก่ เป็นแมลงเศรษฐกิจที่เลี้ยงง่าย ไม่ต้องการการดูแลมาก ใช้เงินลงทุนต่ำ โดยต้นทุนอยู่ที่ 520 บาทต่อรัง แต่ได้ผลตอบแทนกว่า 2,000 บาทต่อรังต่อปี ทำให้มีเกษตรกรจำนวนมากหันมาเลี้ยงชันโรงเพิ่มขึ้น

สำหรับผลิตภัณฑ์จากชันโรง ได้แก่ น้ำผึ้งชันโรง และชัน ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีราคาสูง เฉลี่ย 1,500-2,500 บาทต่อกิโลกรัม น้ำผึ้งชันโรงมีราคาเฉลี่ย 1,500 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งสูงกว่าน้ำผึ้งพันธุ์ และน้ำผึ้งโพรงที่มีราคาอยู่ที่ประมาณ 100 และ 500 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

สาเหตุจากชันโรงเป็นแมลงที่สามารถเก็บเกี่ยวน้ำหวานจากดอกไม้ของพรรณพืชหลากหลายชนิดส่งผลให้ น้ำผึ้งชันโรง มีรสหวาน อมเปรี้ยวเป็นเอกลักษณ์ มีกลิ่นรสเฉพาะตามพืชที่เป็นแหล่งอาหาร น้ำผึ้งชันโรงมีลักษณะทางกายภาพ สารสำคัญที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ในน้ำผึ้งชันโรงเก็บเกี่ยวมาจะมีความแตกต่างกันซึ่งจะขึ้นอยู่กับแหล่งของพรรณพืชชันโรงเก็บเกี่ยวน้ำผึ้งมา (Paini, 2004) น้ำผึ้งชันโรงจึงเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค นอกจากนี้ ผลผลิตแต่ละฤดูมีปริมาณ น้อยจึงมีราคาค่อนข้างสูงกว่าน้ำผึ้งทั่วไป

เนื่องด้วยมูลค่าที่สูงของน้ำผึ้งชันโรงทำให้มีโอกาสถูกปลอมปนในประเทศไทยคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตร ได้จัดทำมาตรฐานสินค้า เกษตร เรื่อง น้ำผึ้งชันโรง มกษ 8005-2567 เพื่อส่งเสริมและยกระดับการผลิตน้ำผึ้งชันโรง ให้มีคุณภาพและความปลอดภัยด้านอาหาร นอกจากนี้ ยังสามารถใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงทางการค้าและสร้างความเชื่อมั่นแก่ผู้บริโภค (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2565)

ชันโรงขนเงิน (*Tetragonula pagdeni* schwarz) เป็นชันโรงที่พบได้ทั่วประเทศ และพบมากในพื้นที่ภาคตะวันออก และภาคกลางของไทย มีการเลี้ยงอย่างแพร่หลายทั้งในระดับวิสาหกิจชุมชนและเกษตรกรแปลงใหญ่ อย่างไรก็ตามปัญหาและอุปสรรคของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงชันโรงพบ คือ ภายหลังการแยกขยายรังชันโรง จะต้องใช้เวลานานในการฟื้นตัว และบ่อยครั้งเกิดปัญหาการล่มสลาย ซึ่งการจากการขาดแคลนอาหารทั้งในด้านของปริมาณและคุณภาพ เพราะโดยปกติแล้วรังชันโรงที่สมบูรณ์จะมีชันโรงงานที่ทำหน้าที่หาอาหาร เช่น เกสร อันเป็นแหล่งของโปรตีนและแร่ธาตุ อีกทั้งยังเป็นแหล่งจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ของชันโรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะตัวอ่อน และอีกหนึ่งปัจจัยสำคัญของการเลี้ยงชันโรงในปัจจุบันคือสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลง ส่งผลกระทบต่อการออกดอกของพืชอาหารของชันโรง ทำให้เกิดปัญหาทั้งในด้านของปริมาณและคุณภาพของพืชอาหารชันโรง ทำให้ชันโรงอ่อนแอ ไม่ออกหาอาหาร อัตราการวางไข่ของชันโรงนางพญาลดลงทำให้จำนวนประชากรของชันโรงลดลง และนำไปสู่การล่มสลายในที่สุด

ดังนั้นการศึกษาการใช้อาหารเสริมสำหรับชันโรง เพื่อเพิ่มผลผลิต เพิ่มอัตราการรอดชีวิต และเพิ่มประชากรชันโรง เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงแบบทั่วไป และแก้ไขปัญหาการขาดแคลนอาหารของชันโรงเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศจนนำไปสู่การล่มสลายของรัง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการผลิตอาหารเสริมสำหรับชันโรงและเพื่อส่งเสริมการเลี้ยงชันโรงโดยจะเป็นประโยชน์โดยตรงต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงชันโรงในเชิงอุตสาหกรรมได้

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 พัฒนาอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงขนเงิน
- 1.2.2 เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงขนเงิน
- 1.2.3 เพื่อศึกษาผลของอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงในระดับภาคสนาม

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ขอบเขตของงานวิจัยนี้จะทำการศึกษาการทดสอบการใช้อาหารเสริมสำเร็จรูปทั้ง 3 สูตร ได้แก่ อาหารสูตร A1 (กากถั่วเหลืองและผงสก็ดยีสต์ เป็นตัวแทนของอาหารฝั่งทางการค้า), อาหารสูตร A2 (กากถั่วเหลืองพร้อมโปรไบโอติก), และ อาหารสูตร A3 (โปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองพร้อมโปรไบโอติก) ร่วมกับสารละลายน้ำตาลซูโครสร้อยละ 50 กับชั้นโรงขนเงิน (*T. pagdeni*) ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบกับชั้นโรงระยะตัวเต็มวัยอายุ 0 วัน โดยให้อาหารเสริมเป็นระยะเวลา 30 วัน โดยคู่อัตราการรอดชีวิต ปริมาณไขมันสะสมในช่องท้อง และการพัฒนาของต่อมไฮโปฟาริงจ์ เนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีเกณฑ์มาตรฐานในส่วนของคุณภาพไขมันสะสมในช่องท้องและการพัฒนาของต่อมไฮโปฟาริงจ์ ผู้วิจัยจึงนำผลการศึกษาของอาหารเสริมทั้ง 3 สูตรมาเปรียบเทียบกับตัวแปรชุดควบคุม (น้ำตาลซูโครสร้อยละ 50) เพื่อเลือกอาหารเสริมสูตรที่เหมาะสมต่อชั้นโรงขนเงินได้สูงสุด ในการนำไปศึกษากับชั้นโรงในระดับภาคสนาม เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเสริมต่อการอยู่รอดของรัง ได้แก่ ปริมาณไข่แก่ ปริมาณไข่อ่อน ถ้วยเกสรและถ้วยน้ำผึ้ง ซึ่งเป็นอาหารสะสมของชั้นโรงภายในรัง เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของอาหารเสริมต่อรังชั้นโรงขนเงิน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ทราบถึงองค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารเสริมที่เหมาะสมสำหรับชั้นโรงขนเงิน
- 1.4.2 ทราบถึงข้อมูลในการใช้งานและพัฒนาอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงขนเงิน เพื่อแก้ปัญหาการขาดแคลนอาหาร

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทั่วไปของชันโรง

2.1.1 ชนิดและการแพร่กระจายของชันโรง

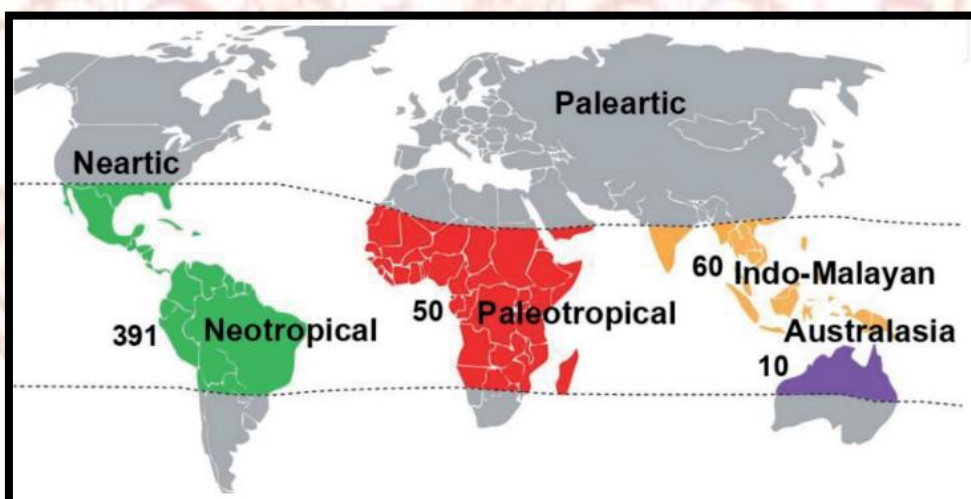
ชันโรง (Stingless bee) เป็นแมลงสังคมขนาดเล็กที่จัดอยู่ในอันดับ Hymenoptera และวงศ์ Apidae เป็นแมลงผสมเกสรตระกูลเดียวกับผึ้งแต่ไม่มีเหล็กใน เป็นแมลงผสมเกสรที่มีประโยชน์ต่อระบบนิเวศและการเกษตร เนื่องจากมีลำตัวขนาดเล็ก มีพฤติกรรมการเก็บเกสรดอกไม้ ไม่เลือกตอมดอกไม้และไม่มีเหล็กในจึงไม่ทำอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยง (สมนึก, 2552) ด้วยเหตุผลดังกล่าวชันโรงจึงสามารถผสมเกสรให้กับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญในสภาพโรงเรือนปิดได้เป็นอย่างดี ชันโรงมีบทบาทสำคัญในการเกษตร โดยช่วยผสมเกสรให้กับพืชไม้ผลทางเศรษฐกิจหลายชนิด ส่งผลให้การติดผลเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ผลผลิตมีคุณภาพดีขึ้น และช่วยเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกร นอกจากนี้ น้ำผึ้งของชันโรงมีรสหวานอมเปรี้ยวและมีส่วนประกอบของชัน ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติทางสมุนไพร ทำให้น้ำผึ้งชันโรงมีสรรพคุณทางยา ด้วยประโยชน์ทั้งในด้านเกษตรกรรมและสุขภาพ ชันโรงจึงเป็นแมลงที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจอย่างมากในปัจจุบัน ชันโรงส่วนใหญ่มีขนาดเล็ก มีต่อมไขที่ส่วนท้อง เส้นปีกมีไม่มากและไม่มีเหล็กในจึงไม่สามารถต่อยได้ ขนาดตัวของชันโรงโดยเฉลี่ยมีขนาดเล็กกว่าผึ้งพันธุ์ประมาณ 2 ถึง 3 เท่า (Winston and Michener., 1977) สำหรับในไทยชันโรงที่พบการเพาะเลี้ยงอย่างแพร่หลาย คือ ชันโรงขนเงิน ซึ่งเป็นชันโรงขนาดเล็ก พบการกระจายตัวอยู่ทั่วประเทศไทย ชันโรงชนิดนี้สามารถเลี้ยงได้ง่าย เติบโตและขยายรังได้อย่างรวดเร็ว ตามธรรมชาติ พวกมันจะเก็บเกสรและน้ำหวานไว้ในถ้วยอาหารที่สร้างจากไขและยางไม้ภายในรัง แต่อาหารเหล่านี้จะถูกเก็บรักษาไว้โดยปิดฝาก่อนนำมาใช้ จุลินทรีย์จากธรรมชาติซึ่งมาจากดอกไม้และติดมากับเกสรหรือน้ำหวาน จะเข้ามามีบทบาทในกระบวนการหมัก เปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีให้เกิดสารใหม่ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของชันโรง

ชันโรงพบได้ทั่วไปในพื้นที่เขตร้อนและเขตกึ่งร้อน รายงานการสำรวจทั่วโลกพบว่ามีชันโรงมากกว่า 500 ชนิด และในประเทศไทยพบชันโรงมากกว่า 40 ชนิด แต่ละชนิดมีการกระจายตัวต่างกันในแต่ละพื้นที่ขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งอาหาร สภาพแวดล้อม อุณหภูมิ และระดับความสูงของพื้นที่อาศัยจากระดับน้ำทะเล (สมนึก และอรุณรัตน์, 2549)

ในประเทศไทย ชันโรงมีการกระจายพันธุ์ทั่วทุกภูมิภาค แต่ระดับความหลากหลายของชนิดแตกต่างกันไป โดยภาคใต้เป็นพื้นที่ที่มีความหลากหลายของชนิดสูงสุด ในขณะที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความหลากหลายน้อยที่สุด ชันโรงบางชนิดสามารถพบได้ในทุกภูมิภาคของประเทศ ได้แก่ *Tetragonula pagdeni*, *T. fuscobalteata*, *T. laeviceps*, *T. collina*, และ *T. terminata* (Michener and Boongird, 2004)

นอกจากนี้ ชันโรงในกลุ่ม *Meliponini* ยังแสดงความแตกต่างอย่างชัดเจนในด้านขนาดและโครงสร้างทางสังคม ขนาดลำตัวมีความหลากหลายสูง เช่น *Melipona fulginosa* มีความยาวลำตัวมากกว่า 13 มิลลิเมตร ในขณะที่ *Trigona duckei* มีขนาดเพียง 2 มิลลิเมตร (Sommeijer, 1999) ความแตกต่างในขนาดนี้อาจสะท้อนถึงกลยุทธ์การดำรงชีวิตและการปรับตัวของแต่ละสปีชีส์ในระบบนิเวศที่แตกต่างกัน

โครงสร้างประชากรภายในรังก็มีความแตกต่างกันระหว่างสกุล โดยในสกุล *Melipona* มักมีจำนวนประชากรอยู่ในระดับหลักร้อยตัวต่อรัง ขณะที่สกุล *Trigona* สามารถมีจำนวนประชากรมากถึงหลักหมื่นตัวต่อรัง ความแตกต่างนี้อาจเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมการสร้างรัง ขนาดของรัง และกลยุทธ์การดำรงชีวิตของแต่ละกลุ่ม ซึ่งเป็นประเด็นสำคัญในการศึกษาวิวัฒนาการของชันโรงและบทบาทของพวกมันในระบบนิเวศ (Sommeijer, 1999)



ภาพที่ 2-1 การกระจายตัวของชันโรง

ที่มา : (Rattanawanee and Duangphakdee, 2020)

2.1.2 วรรณะของชันโรง

ชันโรงแบ่งแยกเป็น 3 วรรณะ ได้แก่ ชันโรงนางพญา ชันโรงงาน และชันโรงตัวผู้ ซึ่งรายละเอียดของแต่ละวรรณะ มีดังนี้

2.1.2.1 วรรณะนางพญา

โดยทั่วไปภายในรังชันโรงจะมีชันโรงนางพญาจำนวน 1 ตัว ทำหน้าที่เป็นแม่รัง คือ มีหน้าที่สืบพันธุ์และวางไข่เพื่อสร้างประชากรภายในรัง ชันโรงนางพญาจะมีขนาดใหญ่กว่าวรรณะอื่น โดยเฉพาะที่บริเวณท้องที่มีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับส่วนหัวและอกรวมกัน

2.1.2.2 วรรณะตัวผู้

ชันโรงตัวผู้ มีหน้าที่ ผสมพันธุ์กับชันโรงนางพญาเท่านั้น มีขนาดเล็กกว่าชันโรงงาน มีปริมาณน้อย และพบในบางช่วงเวลาเท่านั้นโดยเฉพาะฤดูขยายพันธุ์

2.1.2.3 วรรณะงาน

ชันโรงงานเป็นชันโรงที่มีประชากรมากที่สุดในรัง มีขนาดลำตัวเล็กกว่าชันโรงนางพญา มีหน้าที่ทำความสะอาด ดูแลความเรียบร้อย สร้างกระเปาะตัวอ่อน กระเปาะอาหาร สร้างรัง ป้องกันรัง และหาอาหารภายนอกรัง ซึ่งหน้าที่รับผิดชอบของชันโรงงานจะถูกรับผิดชอบโดยชันโรงงานที่มีอายุแตกต่างกัน นั่นคือชันโรงแต่ละตัวเมื่อออกมาจากถ้วยตัวอ่อนเป็นตัวเต็มวัยแล้วจะมีหน้าที่เปลี่ยนไปเมื่ออายุมากขึ้น



ภาพที่ 2-2 วรรณะต่าง ๆ ของชันโรง

ก.วรรณะงาน ข.วรรณะตัวผู้ ค.วรรณะนางพญา

2.1.3 วงจรชีวิตของชันโรง

การเจริญเติบโตของชันโรงมี 4 ระยะคือ

2.1.3.1 ระยะไข่ ลักษณะรูปไข่ยาว ตั้งอยู่บนอาหารเหลวชั้นที่ชันโรงงานใส่ในถ้วย ตัวอ่อนแล้ว ปิดถ้วยภายหลังนางพญาวางไข่เสร็จ ถ้วยตัวอ่อนของระยะไข่จะมีสีเข้มที่สุด

2.1.3.2 ระยะหนอน มีสีขาวขุ่นถึงสีครีม หนอนจะนอนงอเป็นรูปตัวซีลอยอยู่บนอาหาร มีการลอกคราบหลายครั้ง และเข้าดักแด้ภายในถ้วย ถ้วยตัวอ่อนของหนอน ระยะแรกจะมีสีเข้มและค่อย ๆ มีสีจางลงเมื่อหนอนมีอายุมากขึ้น

2.1.3.3 ระยะดักแด้ พบในถ้วยตัวอ่อนที่มีสีอ่อนลงมาก ถ้วยมีลักษณะแฟบอ่อนนุ่ม

2.1.3.4 ระยะตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยของชันโรงจะกัดถ้วยตัวอ่อนออกมา โดยอาจมีชันโรงงานที่อายุน้อยคอยช่วยกัดจากภายนอก ชันโรงที่ออกจากถ้วยตัวอ่อนใหม่ ๆ มีลำตัวสีอ่อน เคลื่อนไหวช้า มักพบเดินอยู่บริเวณถ้วยตัวอ่อน จากนั้นสีของลำตัว ก็จะเข้มขึ้น เมื่อมีอายุมากขึ้น พร้อมทั้งภาระหน้าที่ ที่รับผิดชอบภายในรังก็จะเปลี่ยนไปตามอายุที่มากขึ้นด้วย เช่นเดียวกับการแบ่งหน้าที่ของผึ้ง โดยภาระหน้าที่ ภายในรัง เช่น ทำความสะอาด สร้างถ้วยตัวอ่อน ใส่อาหารในถ้วย เป็นต้น จะเป็น ภาระงานของชันโรงงานที่มีอายุน้อยที่อาศัยอยู่ในรัง ส่วนการหาอาหาร ชัน และน้ำจะเป็น ภาระงานของชันโรงงานที่มีอายุมาก และบินออกจากรัง ทั้งนี้ระยะเวลาที่ใช้ในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของชันโรงแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป



ภาพที่ 2-3 วงจรชีวิต (life cycle) ของชันโรงงาน *Tetragonula pagdeni*

ที่มา : (Atsalek, 2022)

2.1.4 องค์ประกอบภายในรัง

2.1.4.1 ปากทางเข้ารัง

ทำจากชัน หรือยาไม้ในธรรมชาติโดยมีปากทางเข้ารัง หลายแบบตามชนิดของชันโรง แต่รังที่ขายกันตามท้องตลาดมักจะใช้ฝาขวดขวดพลาสติกเป็นทางเข้า เพราะสามารถเปิดปิดได้ง่ายซึ่งจะเห็นชันสีดำอยู่ตรงปากทางเพื่อให้ชันโรงจำกลิ่นรังของตนเองได้

2.1.4.2 กลุ่มไข่และตัวอ่อน

เมื่อเปิดฝารังขึ้นมาจะเห็นกลุ่มไข่และตัวอ่อน อยู่ในถ้วยทรงกลมเรียงซ้อนกันเป็นกลุ่ม ถ้วยสีเข้ม คือ ไข่อ่อน แต่ถ้วยสีอ่อน คือ ไข่แก่

2.1.4.3 ถ้วยอาหาร

เป็นถ้วยทรงกลมใหญ่กว่ากลุ่มไข่และตัวอ่อนใช้เป็นที่เก็บอาหาร ซึ่งสีน้ำตาลเข้มเก็บน้ำผึ้ง สีน้ำตาลสว่างเก็บเกสร

2.1.4.4 พรอพอลิส (Propolis)

ชันที่ชันโรงผลิตได้มี 2 ส่วน ส่วนแรกเรียกว่า พรอพอลิส สีเข้ม เป็นยางไม้ที่ชันโรงไปเก็บมาจากต้นไม้ หรือยางไม้ต่างๆ ผสมกับไขผึ้ง ค่อนข้างแข็งติดอยู่ตามด้านในของรังซึ่งชันโรงใช้พรอพอลิสอุดรูรั่วในรังไม่ให้ศัตรู เชื้อโรค และแสง ซึ่งนอกจาก ช่วยให้แข็งแรงแล้วยังช่วยป้องกันน้ำและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ด้วย



ภาพที่ 2-4 แสดงองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในรังของชันโรง

2.1.5 ศัตรูของชั้นโรง

ชั้นโรงมีลำตัวขนาดเล็ก และลักษณะการบินไม่เป็นแนวตรงหรือโค้ง การบินของชั้นโรงจะเป็นแบบหักมุมซ้ายบ้างขวาบ้าง ทำให้หลบศัตรูได้ง่าย และภายในรังของชั้นโรงจะเก็บยางไม้ศัตรูของชั้นโรงจึงไม่ค่อยมี แต่อย่างไรก็ตามชั้นโรงก็ยังมีศัตรู ที่สำคัญๆ คอยทำลายชั้นโรง เช่น

2.1.5.1 มด เป็นแมลงที่ชอบกินน้ำหวาน จะรบกวนในระยะที่มีการแยกขยายรังใหม่ๆ โดยจะเข้าไปกินน้ำหวาน ภายในรัง ทำให้ชั้นโรงทิ้งรังหนีไป ชั้นโรงบางชนิด มดก็ไม่สามารถเข้าไปได้ เพราะจะสร้างยางเหนียวไว้เป็นเกาะป้องกันรัง สำหรับการป้องกันมดสามารถทำได้โดยนำผ้าชุบน้ำมันมาพันบริเวณขาตั้งรังชั้นโรง หรือทาน้ำมันที่ขาตั้งรัง

2.1.5.2 มวน เป็นศัตรูใช้ปากเจาะแทงดูดน้ำเลี้ยงของชั้นโรง โดยจะจับชั้นโรงที่ใกล้ๆ รัง ถ้าหากมีมวนจำนวนมากจะทำให้ประชากรชั้นโรงลดน้อยลงอย่างเห็นได้ชัดเจน มวนจะชอบอาศัยตามกิ่งไม้ ใบไม้ บริเวณไม้ไผ่ของชั้นโรง หาก ประชากรชั้นโรงลดลงควรย้ายที่ตั้งรังใหม่

2.1.5.3 หนอนแมลงวัน จะเข้าทำลายในระยะที่เป็นหนอนเข้าไปกัดถ้ำด้วยน้ำหวานและกินน้ำหวานของชั้นโรง หากมี มากจะทำให้ชั้นโรงทิ้งรังได้ ต้องหมั่นตรวจสอบสภาพรังอย่างสม่ำเสมอ หากพบหนอนแมลงวันให้ทำลายทิ้งทันที

2.1.5.4 นก โดยเฉพาะนกที่กินแมลง จะไปดักจับเกาะบริเวณดอกไม้ที่ชั้นโรงตอมอยู่ ทำให้ง่ายต่อการจับกิน นอกจากสัตว์ต่าง ๆ ดังที่กล่าวมาแล้ว สภาพแวดล้อม ได้แก่ ความชื้นสูง ก็มีผลทำให้รังชั้นโรงเน่า หนอน แมลงวันจะมาไข่ และทำลายชั้นโรงได้ ดังนั้นเพื่อให้ชั้นโรงมีความสมบูรณ์ แข็งแรงจึงควรหมั่นสังเกต และตรวจสอบสภาพรังเดือน ละครั้ง



ภาพที่ 2-5 มด ศัตรูตามธรรมชาติของชั้นโรง
ที่มา : (Atsalek, 2022)

2.1.6 น้ำผึ้งชันโรง

น้ำผึ้งที่ถูกผลิตขึ้นจากชันโรง (Stingless Bee) จะมีรสหวาน อมเปรี้ยวเป็นเอกลักษณ์ และจะมีความเปรี้ยวเพิ่มขึ้นเมื่อถูกเก็บไว้นานขึ้น มีสีกลิ่นรสเฉพาะตามพืชที่เป็นแหล่งอาหารอีกทั้งยังมีสีเข้มกว่าน้ำผึ้งทั่วไป น้ำผึ้งชันโรงมีลักษณะทางกายภาพ และทางเคมี แตกต่างกันซึ่งจะขึ้นอยู่กับแหล่งของพรรณพืชที่ชันโรงเก็บเกี่ยวน้ำผึ้งมา (Paini, 2004).

องค์ประกอบของน้ำผึ้ง ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 82.00 (ประกอบด้วยซูโครส ฟรุคโตส และมอลโตส) โปรตีนร้อยละ 0.30 น้ำร้อยละ 17.00 แร่ธาตุร้อยละ 0.70 รวมถึงวิตามินและสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ โปรตีนในน้ำผึ้งยังประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายและเอนไซม์สำคัญ เช่น amylase, glucose oxidase และ glutathione S-transferase (กัลย์ธีรา และคณะ, 2563) น้ำผึ้งจากดอกไม้แต่ละชนิดจึงมีความแตกต่างกันในด้านรสชาติ กลิ่น สี และองค์ประกอบของน้ำตาล โดยเฉพาะสัดส่วนของกลูโคสและฟรุคโตส ซึ่งมีผลต่อคุณสมบัติการตกผลึกของน้ำผึ้งแต่ละประเภท

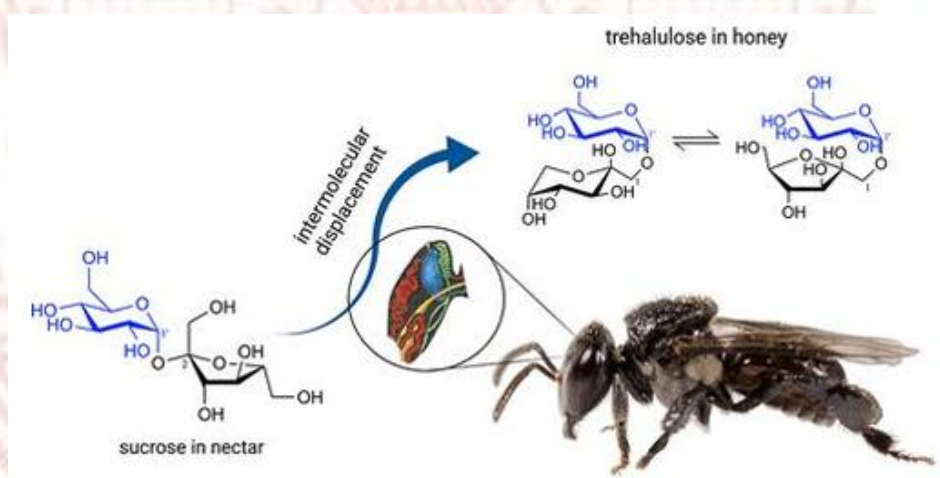
น้ำผึ้งชันโรงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง โดยมีค่าดีพีพีเอช 769.13 ± 63.27 มิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซีต่อ 100 กรัม น้ำผึ้ง และมีปริมาณฟีนอลิกรวม 556.88 ± 20.11 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม น้ำผึ้ง (อิมรอน และคณะ, 2563) ซึ่งช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ ด้านเชื้อโรคยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและจุลินทรีย์ อีกทั้งยังช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันให้ร่างกาย เนื่องจากชันโรงเป็นแมลงเก็บเกสรที่เก็บเกสรดอกไม้มากกว่าน้ำหวาน ทำให้น้ำผึ้งชันโรงอุดมไปด้วยสารอาหารและมีสรรพคุณทางยาค่อนข้างสูง จึงเป็นที่นิยมในการบริโภคเพื่อส่งเสริมสุขภาพ น้ำผึ้งชันโรงจึงเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค นอกจากนี้ผลผลิตแต่ละฤดูมีปริมาณ น้อยจึงมีราคาค่อนข้างสูงกว่าน้ำผึ้งทั่วไป โดยน้ำผึ้งชันโรงจะมีราคาเฉลี่ย 1,500 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งสูงกว่าน้ำผึ้งพันธุ์และน้ำผึ้งโพรงที่มีราคาอยู่ที่ประมาณ 100 และ 500 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

ด้วยมูลค่าที่สูงของน้ำผึ้งชันโรงทำให้มีโอกาสถูกปลอมปนในประเทศไทยคณะกรรมการมาตรฐานสินค้าเกษตร ได้จัดทำมาตรฐานสินค้า เกษตร เรื่อง น้ำผึ้งชันโรง มกษ 8005-2567 เพื่อส่งเสริมและยกระดับการผลิตน้ำผึ้งชันโรง ให้มีคุณภาพและความปลอดภัยด้าน อาหาร นอกจากนี้ ยังสามารถใช้เป็นเกณฑ์อ้างอิงทางการค้าและสร้างความเชื่อมั่นแก่ผู้บริโภค (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2565)

นอกจากนี้มีการวิจัยพบว่า สารออกฤทธิ์หลักที่มีคุณสมบัติทางยาได้รับการระบุว่าเป็น ไตรแซ็กคาไรด์กลูโคส-ฟรุคโตสชนิดพิเศษ ที่เรียกว่า ทรีฮาโลส (Trehalulose) ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่และมีโครงสร้างเป็นไอโซเมอร์ของน้ำตาลซูโครส ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสอย่างละ

1 โมเลกุล น้ำตาลทรีฮาโลส โดยในธรรมชาติพบในน้ำผึ้งชันโรง เกสร และอ้อย เท่านั้น ซึ่งพบในน้ำผึ้งชันโรงมากที่สุด

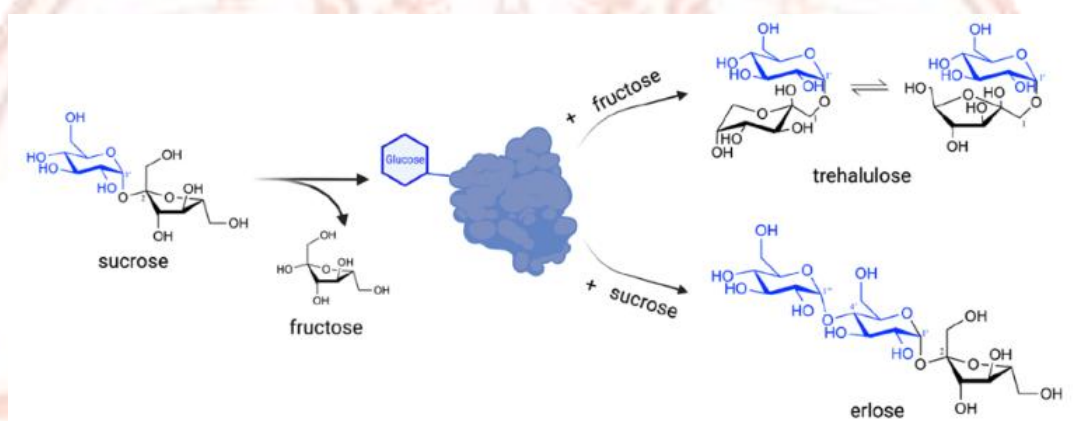
จากการศึกษาพบว่า ทรีฮาโลสเป็นน้ำตาลหลักในน้ำผึ้งชันโรง ปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสในน้ำผึ้งชันโรงแต่ละสายพันธุ์มีจำนวนไม่เท่ากัน โดยอยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 7-57 ของน้ำหนักทั้งหมด โดยคาดว่าน่าจะขึ้นอยู่กับปริมาณเอนไซม์ Trehalulose synthase จากต่อมไฮโปฟาริงจ์ (Fletcher et al., 2020; Zhang et al., 2022) นอกจากนี้ มีการศึกษาล่าสุดที่ชี้ให้เห็นว่า ทรีฮาโลสในน้ำผึ้งชันโรงมีต้นกำเนิดจากซูโครสในน้ำหวานดอกไม้ เมื่อนำ สารละลายซูโครส ป้อนให้แก่ ชันโรงสายพันธุ์ *Tetragonula carbonaria* ที่ถูกเลี้ยงในรังปิด พบว่าผึ้งผลิต ทรีฮาโลส ฟรุคโตส และเออร์โลสในปริมาณเล็กน้อย ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในน้ำผึ้งที่เก็บมา อย่างไรก็ตาม กลไกของกระบวนการเปลี่ยนแปลงจากซูโครสเป็นทรีฮาโลสโดยชันโรงยังไม่เคยถูกศึกษามาก่อน (Zhang et al., 2022)



ภาพที่ 2-6 แสดงกระบวนการการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลซูโครสเป็นทรีฮาโลส
ที่มา : (Zhang et al., 2022)

กระบวนการเปลี่ยนแปลงซูโครสเป็น Trehalulose ในผึ้งชันโรง เกิดจากเอนไซม์ที่ถูกสร้างในต่อมไฮโปฟาริงจ์บริเวณส่วนหัวของชันโรง โดยเอนไซม์หลักที่เปลี่ยนซูโครสเป็น Trehalulose คือ Trehalulose Synthase ซึ่งจำแนกตามกลไก double displacement reaction คือ การ

สร้างอนุพันธ์เอนไซม์กลูโคซิล (β -D-glucosyl enzyme intermediate) โดยที่ ซูโครสทำหน้าที่เป็น ตัวให้กลูโคส (glucose donor) โดยเอนไซม์จะทำปฏิกิริยากับซูโครสโดยตัดพันธะ α -(1 $\rightarrow$ 2) glycosidic bond และจะปลดปล่อยฟรุกโตสออกมาและสร้างกลูโคซิล-เอนไซม์เป็นตัวกลาง หลังจากนั้นจะเกิดการกลูโคซิเลชันของฟรุกโตส โดยที่ฟรุกโตสที่ถูกปลดปล่อยออกมา สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับกลูโคซิล-เอนไซม์ เกิดการเชื่อมพันธะ α -(1 $\rightarrow$ 1) glycosidic bond ได้เป็น Trehalulose อีกเส้นทางหนึ่งคือ กลูโคซิล-เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับซูโครสที่ยังไม่ถูกย่อย สร้าง Erlose ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์รอง (Zhang et al., 2022)



ภาพที่ 2-7 กลไกการสร้าง Trehalulose และ Erlose โดยชั้นโรงผ่านตัวกลาง β -D-glucosyl-enzyme

ที่มา : (Zhang et al., 2022)

น้ำตาลทรีฮาโลสมีผลดีต่อมนุษย์ เนื่องจากร่างกายมนุษย์ย่อยสลายได้ยาก ซึ่งช่วยให้ระดับน้ำตาลในเลือดไม่เพิ่มขึ้นสูงหลังบริโภคน้ำผึ้งชันโรง และช่วยให้ระดับน้ำตาลในเลือดคงที่ ส่งผลให้อิ่มนานขึ้นและหิวช้าลง นอกจากนี้ยังมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Streptococcus mutans* ซึ่งเป็นสาเหตุของฟันผุ ในอนาคตอาจใช้ปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสในน้ำผึ้งชันโรงเป็นเกณฑ์ในการบ่งบอกคุณค่าและราคาของน้ำผึ้ง เนื่องจากน้ำตาลทรีฮาโลสเป็นน้ำตาลที่มีผลเชิงสุขภาพและพบในธรรมชาติน้อยมาก สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาและรายงานการวิจัยเกี่ยวกับน้ำตาลทรีฮาโลสในน้ำผึ้งชันโรงแต่อย่างใด

โดยน้ำตาลทรีฮาโลสในน้ำผึ้งชันโรงนั้นเกี่ยวข้องกับต่อมไฮโปฟาริงซ์ (Hypopharyngeal Gland; HPGs) คือ ต่อมมีท่อ (Exocrine gland) ทำหน้าที่ผลิตและลำเลียงสาร

ไปยังอวัยวะที่ต้องการ ต่อมชนิดนี้พบในสิ่งมีชีวิตหลายกลุ่ม รวมถึงแมลง เช่น ผึ้ง ต่อ แตน และชันโรง ซึ่งต่อมมีท่อของผึ้งและชันโรงได้แก่ ต่อมน้ำลาย (Mandibular gland) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างฟีโรโมน และ HPGs ที่ผลิตสารอื่น ๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกับการสร้างฟีโรโมน

โครงสร้างของ HPGs ประกอบด้วย Acinus (Secretory) cells ที่รวมตัวเป็นกลุ่ม อาจมีรูปร่างหลายรูปแบบ เช่น ท่อ (Tubules) หรือ กระเปาะ (Acinus) หรือรวมกันทั้งท่อและกระเปาะ (Tubulo-alveolar shape) เซลล์เหล่านี้จะสร้างสารคัดหลั่งชนิดต่าง ๆ ซึ่งมีลักษณะและชนิดต่างกัน เรียกว่า “Secretory products” หรือ “Granules” ต่อมไฮโปฟาริงจ์ถูกค้นพบครั้งแรกในปี 1846 (Landin and Costa, 1998) และเป็นต่อมเฉพาะในแมลงอันดับ Hymenoptera เช่น ผึ้ง ต่อ แตน และชันโรง โดยแต่ละชนิดจะมีโครงสร้างและหน้าที่แตกต่างกัน (Ahmad et al., 2021)

การศึกษาต่อม HPGs ในแมลงกลุ่ม Hymenoptera จะเน้นไปยัง ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ซึ่งพบว่า HPGs จะพัฒนาได้สูงสุดในผึ้งงาน โดยเฉพาะในช่วง ผึ้งพี่เลี้ยง (Nurse bees) ที่มีต่อมขนาดใหญ่และพัฒนาอย่างเต็มที่ เนื่องจากทำหน้าที่ผลิต นมผึ้ง (Royal jelly) ซึ่งเป็นอาหารสำคัญของนางพญาและตัวอ่อน นอกจากนี้ HPGs ยังเกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์ย่อยอาหารที่ส่งผลต่อการพัฒนาการของตัวอ่อนและความแข็งแรงของรังผึ้ง

แม้ว่าข้อมูลที่ชัดเจนเกี่ยวกับพฤติกรรมการทำงานที่เกี่ยวข้องกับ HPGs ในชันโรง อาจจะหาได้ยากเนื่องจากไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับ HPGs ของชันโรงมากนัก แต่งานวิจัยของ Lars กล่าวถึงความสัมพันธ์ระหว่าง HPGs และอายุของชันโรง โดยเป็นที่ทราบกันดีว่าชันโรงงานอายุน้อยมักจะทำหน้าที่ต่าง ๆ ภายในรัง (เช่น การสร้างเซลล์และการดูแลลูกผึ้ง) ในขณะที่ชันโรงงานที่อายุมากกว่า มักจะทำหน้าที่เสี่ยงนอกรัง (เช่น การเฝ้าและหาอาหาร) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง พฤติกรรมการดูแลตัวอ่อนในชันโรงมักพบในช่วงอายุ 13–18 วัน อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าพฤติกรรมนี้สามารถพบได้แม้ในช่วงเวลาสั้น ๆ หลังจากที่ชันโรงงานฟักออกจากดักแด่ เช่น ในชันโรงสกุล *Tetragonula spp.* ความหลากหลายทางเวลาไม่เพียงแต่ส่งผลต่อพฤติกรรมเท่านั้น แต่ยังส่งผลต่อการพัฒนาทางสรีรวิทยาของผึ้งแต่ละตัวด้วย ตัวอย่างเช่น ชันโรงงานที่กำลังดูแลตัวอ่อน เช่น ผึ้งพี่เลี้ยง (Nurse bees) จะมี HPGs ที่พัฒนาอย่างมาก ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าและมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าเมื่อเทียบกับชันโรงงานอายุมากกว่า เช่น ผึ้งที่หาอาหาร (Forager bees) (Straub et al., 2024)

เมื่อชันโรงงานมีอายุมากขึ้นและเปลี่ยนจากหน้าที่ดูแลตัวอ่อนไปทำงานอื่น ๆ HPGs จะเสื่อมสภาพลง มีขนาดเล็กลง และมีปริมาณโปรตีนลดลง ดังนั้น สภาพทางสรีรวิทยาของชันโรงงานสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้เพื่อประมาณอายุและหน้าที่ ที่ชันโรงกำลังปฏิบัติอยู่ในขณะนั้น ปัจจัยเพิ่มเติมที่ส่งผลต่อสุขภาพและการพัฒนาทางสรีรวิทยาของชันโรงคือ อาหารที่สมดุลและเพื่อให้รังชันโรงแข็งแรงและมีประชากรเพียงพอ เกษตรกรจึงต้องใช้อาหารเสริม เพื่อช่วยกระตุ้นการพัฒนาของ HPGs ให้สมบูรณ์

2.1.7 พารามิเตอร์การวิเคราะห์คุณภาพน้ำผึ้งชันโรง

พารามิเตอร์ทั่วไปที่ใช้ในการวิเคราะห์เพื่อประเมินสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำผึ้ง ตามเกณฑ์มาตรฐานสินค้าการเกษตรน้ำผึ้งชันโรง CHANNARONG (STINGLESS BEE) HONEY มกษ. 8005-2567 ของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ประกอบด้วยค่าสี ปริมาณความชื้น และค่าความหวาน ซึ่งสมบัติทางเคมีและกายภาพเหล่านี้มีความสัมพันธ์ต่อคุณภาพของน้ำผึ้ง โดยค่าสีบ่งบอกถึงชนิดและแหล่งที่มาของน้ำผึ้ง ความเข้มของสีอาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของดอกไม้ที่เป็นแหล่งน้ำหวาน ค่าการนำไฟฟ้าสะท้อนถึงปริมาณแร่ธาตุและสิ่งเจือปน โดยน้ำผึ้งที่มีค่าการนำไฟฟ้าสูงมักมีแร่ธาตุในปริมาณมาก ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีผลต่อเสถียรภาพและอายุการเก็บรักษาของน้ำผึ้ง ซึ่งน้ำผึ้งทั่วไปมักมีค่า pH อยู่ในช่วง 3.2-4.5 ปริมาณความชื้นมีบทบาทสำคัญต่อการหมักและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ น้ำผึ้งที่มีความชื้นสูงมีแนวโน้มเสียหรือหมักง่าย ปริมาณน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำผึ้ง โดยส่วนใหญ่เป็นฟรุกโตสและกลูโคส ซึ่งมีอิทธิพลต่อความหนืดและการตกผลึกของน้ำผึ้ง ขณะที่ค่าความหวานส่งผลโดยตรงต่อรสชาติของน้ำผึ้ง ทั้งนี้ สมบัติทางเคมีและกายภาพเหล่านี้มีผลต่อคุณภาพโดยรวมของน้ำผึ้ง รวมถึงลักษณะทางประสาทสัมผัสและอายุการเก็บรักษา การควบคุมและวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ดังกล่าวจึงเป็นสิ่งสำคัญในการรับรองคุณภาพของน้ำผึ้งให้เป็นไปตามมาตรฐานและเหมาะสมต่อการบริโภค

2.1.8 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

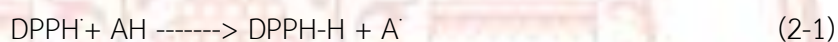
สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือสารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดกระบวนการออกซิเดชัน ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของสารต่างๆ เช่น การเกิดสนิมของเหล็ก การเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลของแอปเปิล หรือการเหม็นหืนของน้ำมันพืช ในร่างกายมนุษย์ กระบวนการออกซิเดชันเกิดขึ้นจากการเผาผลาญอาหาร การหายใจ มลพิษทางอากาศ ควันบุหรี่ และรังสียูวี ซึ่งส่งผลให้เกิดอนุมูลอิสระที่สามารถทำลายโมเลกุลสำคัญ เช่น ไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ อนุมูลอิสระยังสามารถทำปฏิกิริยากับ LDL (low-density lipoprotein) หรือคอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี ส่งผลให้เกิดออกซิไดซ์แอลดีแอล ซึ่งมีหลักฐานว่าส่งผลต่อการแข็งตัวของหลอดเลือด เป็นสาเหตุของโรคหัวใจ อนุมูลอิสระที่เกิดจากออกซิเจนถูกเรียกว่า reactive oxygen species (ROS) และตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่สำคัญ ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O_2^-), ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และไฮดรอกซิลแรดิคัล ($OH^\cdot$)

แม้ว่าจะไม่มีสารใดที่สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันได้ทั้งหมด แต่ละกลไกของกระบวนการออกซิเดชันต้องใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันในการยับยั้ง โดยสามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ Preventive antioxidant ที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ

Scavenging antioxidant ที่ช่วยทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น และ Chain breaking antioxidant ที่ช่วยยุติปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ

2.1.8.1) DPPH assay

DPPH assay เป็นวิธีวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) โดยใช้สารรีเอเจนต์ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และง่ายต่อการวิเคราะห์ อีกทั้งยังให้ผลที่ถูกต้องและแม่นยำสูง หลักการของวิธีนี้อาศัยคุณสมบัติของ DPPH ซึ่งเป็น stable radical ที่ละลายในเมทานอล โดยสารละลายนี้มีสีม่วงและสามารถดูดกลืนแสงได้ดีในช่วงความยาวคลื่น 515-517 นาโนเมตร เมื่อ DPPH[•] ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (AH) หรือกับ radical species (R[•]) ดังสมการที่ (2-1) และ (2-2) จะทำให้สีของสารละลายจางลง เนื่องจากอิเล็กตรอนที่ได้รับจากสารต้านอนุมูลอิสระทำให้ DPPH[•] เปลี่ยนเป็นรูปที่ไม่มีสี ซึ่งสามารถติดตามผลได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงตามสมการที่เกี่ยวข้อง



วิธีการทดสอบ DPPH assay คือ เมื่อ DPPH[•] ทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง โดยเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน เช่น BHT (Butylated Hydroxytoluene) หากตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง ความเข้มของสารละลายสีม่วงจะลดลงมากขึ้น ซึ่งผลการทดลองจะถูกแสดงในรูปของค่า % การยับยั้งอนุมูลอิสระ (% Inhibition) หรือค่า IC₅₀ (ค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถลดการดูดกลืนแสงของ DPPH[•] ลง 50%) โดยค่าที่ต่ำกว่าหมายถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงขึ้น

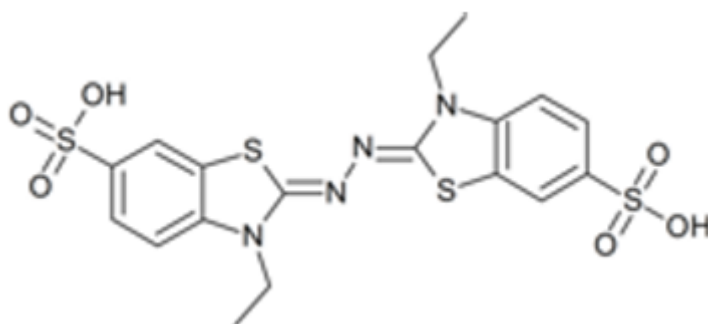
$$\% \text{Inhibition} = [(\text{AB} - \text{AA}) / \text{AB}] \times 100$$

เมื่อ AA = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่างผสมกับ DPPH

AB = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH

2.1.8.2) ABTS assay

ABTS ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและงานวิจัยทางการแพทย์เพื่อประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารในอาหาร โดย ABTS จะถูกเปลี่ยนเป็นไอออนบวกเรดิคัลผ่านการเติมโซเดียมเพอร์ซัลเฟต ซึ่งทำให้เกิดสารที่มีสีน้ำเงินและสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ไอออนบวกเรดิคัลของ ABTS สามารถทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น โพลีฟีนอล ไทออล และวิตามินซี เมื่อเกิดปฏิกิริยาขึ้น ไอออนบวกเรดิคัลของ ABTS จะถูกเปลี่ยนกลับเป็นรูปที่ไม่มีสีและอยู่ในสถานะที่เป็นกลาง โดยสามารถตรวจวัดได้ผ่านวิธีการที่เรียกว่า Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารต่างๆ กับค่ามาตรฐานของ Trolox ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของวิตามินอี



ภาพที่ 2-8 โครงสร้างทางเคมีของสาร ABTS

ที่มา : <https://th.wikipedia.org/wiki/ABTS>

เนื่องจาก $ABTS^{+}$ มีค่าการดูดกลืนแสงสูงในสถานะปกติ จึงต้องทำการเจือจางด้วยบัฟเฟอร์ก่อนทำการทดลอง จากนั้นจึงนำ $ABTS^{+}$ ไปทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ละลายในเอทานอลเจือจาง ซึ่งจะทำให้สีของสารละลายจางลง เมื่อปล่อยให้สารทำปฏิกิริยาจนครบระยะเวลาที่กำหนด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างสามารถวัดได้โดยเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลง และสามารถคำนวณค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้โดยใช้หลักการเดียวกันกับวิธี DPPH

2.1.9 จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารที่มักพบในน้ำผึ้งและน้ำผึ้งชันโรง

จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารหมายถึง จุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส พยาธิ และโปรโตซัว ที่สามารถก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ผ่านการบริโภคอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อน การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคหรือสารพิษที่เกิดจากจุลินทรีย์ในอาหารอาจทำให้ผู้บริโภคเจ็บป่วยจากโรคที่เกิดจากอาหาร ซึ่งสามารถจำแนกออกเป็น 3 ลักษณะ ได้แก่ โรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเกิดจากสารพิษที่ปนเปื้อนในอาหาร, โรคติดเชื้อจากอาหาร ที่เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีเชื้อก่อโรคเข้าสู่ร่างกาย และ โรคจากสารพิษที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นในร่างกายมนุษย์ ซึ่งเกิดจากจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารพิษภายในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ (ศนิ, 2019)

2.1.9.1) *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียชนิด facultative anaerobic ที่มีลักษณะเป็น แกรมบวก รูปกลม และเป็นหนึ่งในจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่พบได้ในผิวหนังและโพรงจมูกของมนุษย์ อย่างไรก็ตาม *S. aureus* ถือเป็นเชื้อก่อโรคที่สามารถปนเปื้อนลงในอาหารและสร้างสารพิษที่เรียกว่า เอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ ผู้บริโภคที่รับประทานอาหารที่ปนเปื้อนสารพิษนี้จะมีอาการภายใน 1-6 ชั่วโมง โดยอาการที่พบได้ ได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง และปวดท้อง ซึ่งมักเกิดขึ้นอย่างเฉียบพลัน โดยทั่วไปผู้ป่วยมักไม่เสียชีวิต แต่ในบางรายที่มีอาการรุนแรงอาจเกิดภาวะช็อกได้

2.1.9.2) *Escherichia coli* (*E. coli*) เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น (Normal flora) ที่พบในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น โดยทั่วไปจะไม่ก่อให้เกิดอันตรายหรือโรคภัยรุนแรง และยังมีบทบาทในการช่วยย่อยอาหารที่รับประทานเข้าไป อย่างไรก็ตาม หากเชื้อ *E. coli* แพร่กระจายไปยังระบบอื่น ๆ ของร่างกาย อาจทำให้เกิดการติดเชื้อรุนแรง เช่น การติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ และการติดเชื้อในกระแสเลือด นอกจากนี้ ยังมีสายพันธุ์ของ *E. coli* ที่สามารถทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้ ซึ่งมักเกิดจากการปนเปื้อนในอาหารหรือน้ำดื่ม ทั้งนี้ *E. coli* ที่ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วง (Diarrheagenic *E. coli*) มีความสามารถในการสร้างสารพิษและกลไกการก่อโรคที่แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์

2.1.9.3) *Salmonella* spp. เป็นสกุลของแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae ซึ่งสามารถก่อให้เกิดโรคในมนุษย์โดยมีอาหารเป็นสื่อกลางในการแพร่กระจาย โดยแบคทีเรียชนิดนี้มีลักษณะเป็นรูปร่างท่อน (rod-shaped) และย้อมติดสีแกรมลบ (Gram-negative bacteria) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe ซึ่งหมายความว่าแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แต่จะเจริญได้ดีในสภาวะที่มีอากาศมากกว่า นอกจากนี้ *Salmonella* spp. ไม่สามารถสร้างสปอร์ได้

การติดเชื้อจาก *Salmonella* ก่อให้เกิดโรค ซาลโมเนลโลซิส (Salmonellosis) ซึ่งเป็นการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ทำให้เกิดอาการลำไส้อักเสบ (gastroenteritis) ซึ่งอาจมีอาการต่างๆ เช่น ท้องเสีย, ปวดท้อง, และมีไข้

2.1.9.4) *Bacillus cereus* เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* ซึ่งเป็นเชื้อที่สามารถทำให้เกิดโรค (pathogen) โดยแบคทีเรียชนิดนี้ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram-positive bacteria) และมีลักษณะเป็นรูปร่างท่อน (rod-shaped) สามารถสร้างสปอร์ (spore-forming bacteria) ซึ่งทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่รุนแรงได้ เช่น ความร้อนและความแห้งแล้ง แบคทีเรียนี้เจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีอากาศ (aerobic bacteria) และสามารถสร้างสารพิษที่ทนความร้อนได้

Bacillus cereus เจริญได้ดีในอุณหภูมิระหว่าง 28-37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อ แต่จะไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 55 องศาเซลเซียส

เชื้อนี้พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ดิน น้ำ และสามารถสร้างสปอร์ที่ทนต่อความแห้งแล้ง ทำให้พบได้ในฝุ่นและควัน นอกจากนี้ยังสามารถปนเปื้อนในอาหารแห้ง เช่น น้ำตาล วัตถุเจือปนอาหาร เครื่องเทศ และในอาหารกลุ่มแป้งหรือเมล็ดธัญชาติ เช่น ข้าวหุงสุก เส้นก๋วยเตี๋ยว พาสต้า และข้าวกล้องสำเร็จรูป ซึ่งเมื่อรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อน *Bacillus cereus* อาจทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ได้

2.1.9.5) *Pseudomonas aeruginosa* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่จัดเป็นเชื้อ ฉวยโอกาส (opportunistic pathogen) ซึ่งสามารถทำให้เกิดโรคในระบบต่าง ๆ ของร่างกาย โดยเฉพาะในผู้ที่มีภูมิคุ้มกันอ่อนแอหรือมีโรคประจำตัวที่ทำให้ร่างกายไม่สามารถต้านทานเชื้อได้ เช่น โรคในระบบทางเดินหายใจ ทางเดินปัสสาวะ และระบบไหลเวียนโลหิต

เชื้อนี้สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อที่รุนแรงและทวีความรุนแรงได้เมื่อไม่สามารถควบคุมได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่มีการดื้อยาเพิ่มขึ้น ซึ่งการดื้อยาของ *Pseudomonas*

aeruginosa เป็นปัญหาสำคัญ เนื่องจากเชื้อสามารถพัฒนาความต้านทานต่อหลายชนิดของยาได้อย่างรวดเร็ว

มีการคาดการณ์ว่าอัตราการดื้อยาอาจจะสูงขึ้นต่อไปหากไม่มีการควบคุมการใช้ยาอย่างเหมาะสม หรือไม่สามารถควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งจะส่งผลต่อการรักษาและการควบคุมการระบาดของโรคจากเชื้อนี้ในอนาคต

2.1.9.6) *Candida albicans* เป็นเชื้อราในกลุ่ม *Candida* ซึ่งมักพบในลำไส้ และในผิวหนังของมนุษย์ โดยทั่วไป *Candida albicans* มักจะเป็นเชื้อที่ไม่ก่อโรค แต่เมื่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายอ่อนแอหรือมีการเปลี่ยนแปลงในสภาพแวดล้อมของร่างกาย อาทิ การใช้ยาปฏิชีวนะที่ทำให้สมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกายผิดปกติ เชื้อ *Candida albicans* อาจเติบโตอย่างไม่ควบคุมและทำให้เกิดโรค เช่น การติดเชื้อในช่องปาก (oral thrush), การติดเชื้อในช่องคลอด (vaginal candidiasis), หรือการติดเชื้อในกระแสเลือดที่รุนแรง (candidemia)

เมื่อทำการย้อมสีแกรม *Candida albicans* จะแสดงผลเป็นสี น้ำเงิน และมักปรากฏในสองรูปแบบหลัก ได้แก่ ยีสต์ (yeast) และ สายยาว (hyphae) ซึ่งในบางสภาวะ เชื้อสามารถเปลี่ยนจากรูปแบบยีสต์ไปเป็นรูปแบบเส้นใยที่มีและไม่มีผนังกัน การเปลี่ยนแปลงนี้ช่วยให้เชื้อสามารถแทรกซึมและเจริญเติบโตในเนื้อเยื่อของร่างกายได้

การสังเกตผ่านกล้องจุลทรรศน์จะเห็นการแตกหน่อในรูปแบบยีสต์ที่สามารถแพร่พันธุ์ได้เร็วและทำให้เกิดการติดเชื้อในที่ต่าง ๆ ของร่างกายได้

2.1.9.7) *Clostridium botulinum* เป็นแบคทีเรียในสกุล *Clostridium* ที่เป็นเชื้อก่อโรคชนิดหนึ่ง ซึ่งมีอันตรายร้ายแรงถึงชีวิต ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive) และมีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) สามารถสร้างสปอร์ (spore-forming bacteria) และเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ (anaerobic bacteria) ซึ่งหมายความว่าเชื้อสามารถเติบโตในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน

Clostridium botulinum สามารถสร้างสารพิษที่เรียกว่า botulinum toxin ซึ่งเป็นหนึ่งในสารพิษที่ร้ายแรงที่สุดในโลก และทำให้เกิดโรค botulism โรคนี้สามารถทำให้เกิดอาการปวดกล้ามเนื้อ การอัมพาต หรือแม้แต่เสียชีวิต หากไม่ได้รับการรักษาอย่างทันท่วงที

เชื้อ *C. botulinum* เจริญได้ดีในอาหารกระป๋อง โดยเฉพาะในอาหารที่มี กรดต่ำ (low-acid food) เช่น ผัก เนื้อสัตว์ หรืออาหารที่ถูกเก็บในภาชนะที่ปิดสนิท แต่การฆ่าเชื้อในกระป๋องด้วยวิธี commercial sterilization ที่ไม่สมบูรณ์หรือใช้อุณหภูมิหรือเวลาไม่เพียงพอสามารถทำให้แบคทีเรียเหล่านี้รอดชีวิตและสร้างสารพิษได้ ดังนั้นการฆ่าเชื้ออาหารที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อ *C. botulinum* ต้องทำอย่างระมัดระวังเพื่อป้องกันโรคอันตรายนี้

2.1.9.8) *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) คือ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อ methicillin (และยาปฏิชีวนะที่คล้ายกัน) ซึ่งเป็นยาที่มักใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* แบคทีเรียนี้โดยปกติสามารถพบได้ในร่างกายของคนได้โดยไม่ทำให้เกิดอาการป่วยหรือไม่แสดงอาการใดๆ อย่างไรก็ตาม เมื่อ MRSA ทำให้เกิดการติดเชื้อในผู้ป่วยที่มีภาวะเสี่ยงหรือภูมิคุ้มกันอ่อนแอ การติดเชื้ออาจทำให้เกิดอันตรายร้ายแรง

MRSA สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อในหลายส่วนของร่างกาย เช่น ผิวหนัง (เช่น การติดเชื้อที่แผลหรือสิว), ระบบทางเดินหายใจ (เช่น โรคปอดบวม), และกระแสเลือด โดยเชื้อ MRSA สามารถแพร่กระจายได้ทั้งในโรงพยาบาลและในชุมชนทั่วไป ทั้งนี้ การติดเชื้อ MRSA มักจะมีความท้าทายในการรักษา เพราะไม่สามารถรักษาได้ด้วยยาปฏิชีวนะทั่วไปที่ใช้ในสมัยก่อน

การควบคุมการแพร่ระบาดของ MRSA มีความสำคัญมาก เพื่อป้องกันการติดเชื้อในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูง และเพื่อให้การใช้ยาปฏิชีวนะเป็นไปอย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงสุด

ตารางที่ 2-1 การเปรียบเทียบกับมาตรฐานน้ำผึ้งประเทศไทยและน้ำผึ้งชันโรงประเทศมาเลเซีย

พารามิเตอร์	มาตรฐานน้ำผึ้ง (ประเทศไทย) มกษ.8003-2556	มาตรฐานน้ำผึ้งชันโรง (ประเทศไทย) มกษ.8005-2567	มาตรฐานน้ำผึ้ง ชันโรง (มาเลเซีย)
ยีสต์และรา (CFU ต่อมิลลิลิตร)	<10	<100	<10
Total Plate count (CFU ต่อมิลลิลิตร)	NR	NR	$\leq 1 \times 10^3$
<i>Staphylococcus aureus</i> (CFU ต่อ 0.1 กรัม)	NR	≤ 100	NR
Coliform (MPN ต่อกรัม)	NR	NR	<10
Fecal coliform (MPN ต่อกรัม)	NR	NR	NR
<i>Escherichia coli</i>	NR	NR	NR

*หมายเหตุ: NR = ไม่ได้กำหนดไว้ (Non-regulated)

2.2 ความสัมพันธ์ทางชีวภาพระหว่างชันโรงกับเชื้อจุลินทรีย์

ชันโรงมีปฏิสัมพันธ์กับจุลินทรีย์หลากหลายกลุ่ม โดยกระบวนการหมักของจุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและช่วยรักษาทำให้เกสรและน้ำผึ้งมีอายุยืนนานขึ้น (De Paula et al., 2023) มีการค้นพบว่าการอยู่ร่วมกันของยีสต์ *Zygosaccharomyces* sp. SDBC3 กับชันโรงชนิด *Scaptotrigona depilis* โดยยีสต์ชนิดนี้จะเติบโตภายในเซลล์ไข่ (brood cells) และตัวอ่อนจะกินมันเป็นอาหาร ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญสำหรับการเจริญเติบโตของตัวอ่อน เชื้อราที่สะสมสาร เอสโกสเตอรอล (ergosterol) ซึ่งตัวอ่อนนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอกไคสเตอรอยด์ (ecdysteroid) ที่จำเป็นต่อการเข้าดักแด้ (Paludo et al., 2023) นอกจากนี้ ยังมีเชื้อราอื่นๆ ในรังของ *S. depilis* ที่ช่วยควบคุมการเติบโตของ *Zygosaccharomyces* sp. SDBC3 เช่น *Candida* sp. SDCP2 ที่ผลิตแอลกอฮอล์ระเหยเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของ *Zygosaccharomyces* sp. ในขณะที่ *Monascus ruber* SDBC1 ยับยั้งการเจริญเติบโตของทั้ง *Zygosaccharomyces* sp. และ *Candida* sp. ผ่านการผลิต Lovastatin และ Monascin ตามลำดับ (Paludo et al., 2023) นับว่าเป็นความสัมพันธ์แบบการอยู่ร่วมกัน (Symbiotic

relationships) โดยชันโรงจะเลี้ยงเชื้อราไว้ภายในรัง เป็นกลไกการควบคุมความสมดุลทางชีวภาพของประชากรจุลินทรีย์ในรังของชันโรงและการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Metamorphosis) สู่ระยะเต็มวัยของชันโรง (Oldroyd and Aanen, 2015) นอกจากนี้ยังพบว่ามีไรที่กินเชื้อราอาศัยอยู่ในหลอดฟักไข่ของ *Scaptotrigona postica* ซึ่งอาจช่วยควบคุมการเพิ่มจำนวนของเชื้อราทั้งที่เป็นประโยชน์และฉวยโอกาสภายในหลอดฟักไข่ ทำให้ตัวอ่อนพัฒนาได้ดีขึ้น (Rosa-Fontana et al., 2022) ยังมีการศึกษาพบว่าแบคทีเรียบางชนิดมีความสัมพันธ์กับชันโรง (Cerqueira et al., 2021) รายงานว่าชันโรงในสกุล *Melipona* ไม่มีแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในลำไส้ของผึ้งและผึ้งบัมเบิลบี ได้แก่ *Snodgrassella* และ *Gilliamella* ซึ่งมีความสำคัญต่อสุขภาพของผึ้ง พบว่าแบคทีเรียจากเซลล์ไข่ของชันโรง *Melipona scutellaris* สามารถผลิตสารต้านจุลชีพที่ช่วยป้องกันเชื้อโรคในแมลง (Rodriguez et al., 2019) นอกจากนี้ ตัวอ่อนของ *S. depilis* ยังมีแบคทีเรียในลำไส้ *Bacillus* sp. ซึ่งมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารต้านจุลชีพ (Paludo et al., 2023) แสดงให้เห็นถึงปฏิสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ที่ซับซ้อนในชันโรง นอกจากนี้แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria; LAB) มีส่วนช่วยในการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตในเกสรให้กลายเป็นกรดแลคติก ทำให้เกสรหมักมีสภาพเป็นกรดและมีกรดแลคติกซึ่งยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ นอกจากนี้ LAB ยังเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์พบในลำไส้ของชันโรงซึ่งช่วยในการย่อยอาหารและรักษาสมดุลให้กับระบบทางเดินอาหารของชันโรง (Salazar et al., 2016)

2.3 ปัญหาของการเลี้ยงชันโรงในประเทศไทย

ปัจจุบันจำนวนของเกษตรกรผู้เลี้ยงชันโรงในประเทศไทยเพิ่มขึ้น โดยในปี พ.ศ.2565 มีจำนวน 3,881 ราย เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2557 กว่าร้อยละ 554 ปัจจุบันทั่วประเทศไทยมีจำนวนรังชันโรงกว่า 27,829 รัง ซึ่งการขยายตัวอย่างรวดเร็วของการเลี้ยงชันโรงเนื่องจากมีจุดเด่นในหลาย ๆ ด้าน ได้แก่ เป็นแมลงเศรษฐกิจที่เลี้ยงง่าย ไม่ต้องการการดูแลมาก ใช้เงินลงทุนต่ำ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2564) อย่างไรก็ตามปัญหาและอุปสรรคของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงชันโรงพบ คือ ภายหลังการแยกขยายรังชันโรง จะต้องใช้เวลานานในการฟื้นตัว และบ่อยครั้งเกิดปัญหาการล่มสลาย ซึ่งการจากการขาดแคลนอาหารทั้งในด้านของปริมาณและคุณภาพ เพราะโดยปกติแล้วรังชันโรงที่สมบูรณ์จะมีชันโรงงานที่ทำหน้าที่หาอาหาร เช่น เกสร อันเป็นแหล่งของโปรตีนและแร่ธาตุ อีกทั้งยังเป็นแหล่งจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ของชันโรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะตัวอ่อน และอีกหนึ่งปัจจัยสำคัญของการเลี้ยงชันโรงในปัจจุบันคือสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลง (climate change) ไม่เพียงแต่ส่งผลกระทบต่อชันโรงจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น ยังส่งผลทางอ้อมต่อชันโรง เนื่องจากสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลง ส่งผลต่อการออกดอกของพืช ซึ่งปัจจุบันพบว่า สภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลง ทำให้พืชอาหารของชันโรงมีขนาดของดอกลดลง ปริมาณน้ำหวาน และเกสรลดลง ส่งผลให้เกิดปัญหาทั้งในด้านของปริมาณและคุณภาพของพืชอาหารชันโรง ทำให้ชันโรงอ่อนแอ ไม่ออกหาอาหาร อัตราการวางไข่ของชันโรงนางพญาลดลงทำให้จำนวนประชากรของชันโรงลดลง และนำไปสู่การล่มสลายในที่สุด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจในการหาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับชันโรงชนเงิน มาใช้ทดแทนอาหารจากธรรมชาติในช่วงที่ขาดแคลนอาหาร ที่มีต้นทุนต่ำ และมีปริมาณโปรตีนที่สูง เพื่อแก้ไขปัญหาอาหารขาดแคลน

2.4 อาหารของชันโรง

2.4.1 อาหารของชันโรงในธรรมชาติ

อาหารของชันโรงคือน้ำหวานและเกสรดอกไม้ นอกจากนี้ชันโรงยัง ต้องการชันหรือยางจากพืชมาใช้ในการสร้างรังและส่วนประกอบต่าง ๆ ภายในรัง เช่น องค์ประกอบของถ้วยตัวอ่อน ถ้วยเก็บน้ำผึ้ง และ ถ้วยเก็บเกสร ซึ่งทั้งหมดนี้ชันโรงจะต้องไปเก็บจากต้นไม้โดยรอบของที่ตั้งรังของชันโรง ดังนั้นสถานที่ตั้งของชันโรงจำเป็นต้องมีแหล่งอาหาร และชันให้แก่ชันโรงอย่างเพียงพอ แม้ชันโรงจะมีพฤติกรรมการผสมเกสรดอกไม้ เช่นเดียวกับผึ้ง โดยใช้ตระกร้าเก็บเกสรที่อยู่บริเวณขาคู่หลังในการเก็บเกสรดอกไม้ ดังรูปที่ 2-9 แต่มีความแตกต่างที่ว่าชันโรงไม่เลือกตอมดอกไม้ทำให้ในรังของชันโรงมีเกสรดอกไม้หลากหลายชนิดรวมกันอยู่ ในสภาวะการขาดแคลนพืชอาหารในธรรมชาติ เช่น ฤดูฝนมีพืชออกดอกน้อย เกษตรกรผู้เลี้ยงชันโรงที่มีรังชันโรงจำนวนมากอาจต้องปลูกพืชเสริม เช่น พืชตระกูลแตง หรือข้าวโพด เพื่อเสริมเกสรให้กับประชากรในรังชันโรง หรืออาจใช้วิธีให้อาหาร

โดยใช้เกสรผึ้งผสมน้ำผึ้งปั้นเป็นก้อนวางนอกรังเพื่อให้ชันโรงมาเก็บเกสรเข้าไปใช้ในรังเอง (สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, 2556)



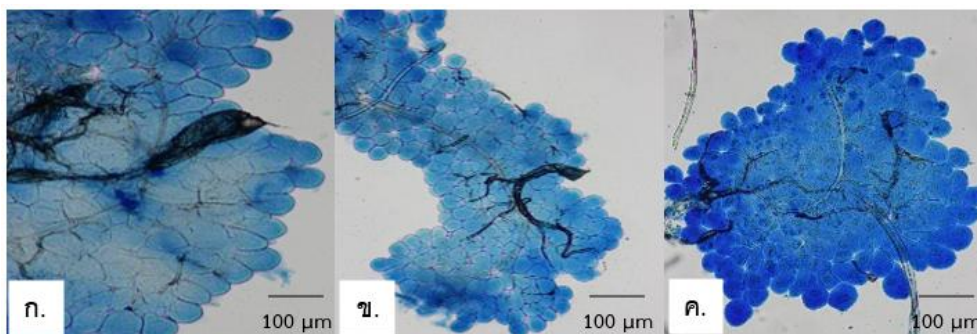
ภาพที่ 2-9 ชันโรงใช้ตระกร้าเก็บเกสรที่อยู่บริเวณขาคู่หลังในการเก็บเกสรดอกไม้
ที่มา : (Atsalek, 2022)

ชันโรงได้รับสารอาหารที่จำเป็นจาก น้ำหวานมีองค์ประกอบหลักเป็นน้ำตาล ทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานให้กับผึ้งงาน และเกสรดอกไม้เป็นแหล่งของ โปรตีน, ไขมัน, วิตามิน และแร่ธาตุ ซึ่งจำเป็นต่อการพัฒนาและการผลิตอาหารสำหรับตัวอ่อน (Queiroz et.al, 2019) เกสรดอกไม้มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการมีเอชชีวิตรอด, ภูมิคุ้มกัน ตลอดจนการพัฒนาต่อมและอวัยวะ ความต้องการอาหารของชันโรงงานอาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับอายุและงานที่ทำภายในรัง

2.4.2 อาหารเสริมสำหรับชันโรง

ในการเลี้ยงชันโรง นอกจากการจัดการรังที่ดีแล้วอาหารสำหรับชันโรงถือเป็นอีกหนึ่งปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของอาณานิคม โดยแหล่งอาหารหลักของชันโรง ได้แก่ เกสรดอกไม้ ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีน และ น้ำหวานจากดอกไม้ ที่เป็นแหล่งพลังงานหลัก นอกจากนี้ยังช่วยให้ชันโรงผลิตไขมันภายในที่เปลี่ยนเป็นไขมันสะสมในร่างกาย จากการศึกษาเชิงทดลอง พบว่าไขมัน ในช่องท้องของชันโรงขึ้นอยู่กับทั้งอาหารที่ชันโรงได้รับและสภาพแวดล้อม อีกทั้งไขมันในช่องท้องยังเป็นตัว บ่งชี้ที่ดีของระบบภูมิคุ้มกันในชันโรงแต่ละตัว ซึ่งหมายถึงความสามารถในการต้านทานโรคหรือยาฆ่าแมลงได้มากขึ้น นอกจากบทบาทที่สำคัญในระบบภูมิคุ้มกันแล้ว ไขมันในช่องท้องของชันโรงยังเป็นส่วนสำคัญ ในการช่วยกักเก็บสารอาหารและพลังงาน เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน (Arrese and Soulages, 2010) อีกทั้งเกสรยังมีโปรตีน ที่จำเป็น โดยละอองเกสร

จะให้สารอาหารที่สมบูรณ์เพื่อให้ ชันโรงสามารถพัฒนาได้อย่างเหมาะสมและทำงานเพื่อความอยู่รอดของรัง และเกสรดอกไม้อย่างอุดมไปด้วย วิตามินบี ซึ่งเป็นสารอาหารที่จำเป็นสำหรับผึ้ง อีกทั้งละอองเรณูยังให้เอนไซม์ที่จะทำให้หน้าที่เป็นตัวเร่ง ปฏิกริยาในปฏิกริยาเคมีต่าง ๆ หน้าที่ที่สำคัญ คือ การวางไข่เนื่องจากเป็นตัวกำหนดความอยู่รอด ของรัง ดังนั้นการเลือกคุณภาพของอาหาร จึงมีผล ต่อการพัฒนาต่อมไฮโปฟาริงจ์ (Hypopharyngeal gland ; HPGs) ของชันโรง ซึ่งต่อม HPGs มีผลต่อ การผลิตนมผึ้ง (Royal jelly) ซึ่งเป็นอาหารให้กับนางพญาและตัวอ่อนภายในรัง การศึกษาในผึ้งพันธุ์พบว่า HPGs มีการพัฒนาสูงสุดในเฉพาะผึ้งงานเท่านั้น โดยเฉพาะผึ้งงานระยะพีเลี้ยง (Nurse bees) จะมีขนาดและมีการพัฒนาของ HPGs สูงที่สุด และต่อม HPGs ยังเกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์ ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหาร ซึ่งมีผลต่อพัฒนาการของตัวอ่อนและส่งผลกระทบต่อความแข็งแรงของรัง ส่วนการศึกษาในชันโรงยังไม่มีการศึกษามากนัก Straub et al., 2024 กล่าวว่า เกสรดอกไม้อาจมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการมีเออาชีวิตรอด, ภูมิคุ้มกัน ตลอดจนการพัฒนาต่อมและอวัยวะ ต่อชันโรง เช่นเดียวกับผึ้งพันธุ์ ความต้องการอาหารของชันโรงงานอาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับอายุและงานที่ทำภายในรัง ตัวอย่างเช่น ชันโรงพยาบาล (Nurse bee) มักจะได้รับอาหารที่มีโปรตีนสูงซึ่งจำเป็นต่อการพัฒนา HPGs ซึ่งจะผลิตสารออกมาแล้วมีท่อลำเลียงสารนั้นออกไปสู่อวัยวะส่วนที่ต้องใช้สารนั้น ๆ สารที่สร้างได้จะกระจายตัวเฉพาะที่เท่านั้น รวมถึงในการผลิตสารที่ช่วยในกระบวนการหมักน้ำผึ้ง ซึ่งพบในสังคมชีวิตหลายชนิดรวมถึงแมลง เช่น ผึ้งและชันโรง ซึ่งต่อมมีท่อของผึ้งและชันโรง ได้แก่ ต่อมน้ำลาย (Mandibular gland) ซึ่งทำหน้าที่สร้างสารที่เกี่ยวข้องกับฟีโรโมน และ HPGs ทำหน้าที่ผลิตสารต่าง ๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกับการเจริญซึ่งไม่ใช่ฟีโรโมน



ภาพที่ 2-10 แสดงลักษณะของต่อมไฮโปฟาริงจ์ของชันโรงในระยะต่าง ๆ

ได้แก่ ก. ชันโรงอายุ 0 วัน (Newly emerged) ข. ชันโรงอายุ 3 วัน และ ค. ชันโรงอายุ 10 วัน

HPGs จะมีขนาดเล็กในชันโรงงานที่เกิดใหม่ แต่จะพัฒนาและขยายใหญ่ที่สุดในช่วงสัปดาห์แรกหลังจากออกจากดักแด้ ซึ่งเป็นช่วงที่ทำหน้าที่เป็นชันโรงพยาบาล และจะหดตัวลงอย่างรวดเร็ว HPGs แปรผันตามคุณภาพของอาหาร ถ้าชันโรงได้รับอาหารที่มีโปรตีนในปริมาณน้อย HPGs จะมีขนาดเล็กเมื่อเทียบกับชันโรงที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนในปริมาณมาก จึงสามารถบ่งบอกถึงคุณภาพของอาหารและปริมาณของโปรตีนในแหล่งอาหารได้ (Vanessa and Lucy, 2018) มีการศึกษาทำการเลี้ยงผึ้งด้วยอาหารเสริม โดยมีส่วนผสมหลักเป็น แป้งถั่วเหลือง แป้งข้าวโพด แป้งถั่วลิสง พบว่า แป้งถั่วเหลืองส่งผลให้ผึ้งมีปริมาณการกินอาหาร ปริมาณน้ำผึ้ง สูงกว่าอาหารชนิดอื่น (Saboor et.al, 2021) แสดงดังตารางที่ 2-2

ตารางที่ 2-2 อาหารเสริมสำหรับผึ้งพันธุ์

สูตรอาหาร	อัตราการกินอาหาร (กรัมต่อรัง)	ไข่ตัวอ่อนที่ปิดฝา (ตารางเซนติเมตร)	ปริมาณน้ำผึ้ง (กิโลกรัมต่อรัง)
แป้งถั่วเหลือง	106.08±2.15	2277.29±28.67	13.00±1.15
แป้งข้าวโพด	73.79±1.73	1747.58±7.11	7.67±1.45
แป้งถั่วลิสง	68.44±1.38	1452±18.17	5.33±0.33

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาทำการเลี้ยงชันโรง 2 ชนิดด้วยอาหารเสริมจากเกสรและถั่วเหลืองเปรียบอัตราการรอดชีวิตพบว่าชันโรง 2 ชนิด *M. flavolineata* และ *S. aff. postica* ที่ได้รับอาหารเสริมจากเกสรดอกไม้มีอายุยืนกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมจากถั่วเหลืองที่ 9 วัน และ 7 วัน

ตามลำดับ จากผลข้างต้นอาหารเสริมจากเกสรดีกว่าถั่วเหลือง แต่ว่าไม่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจึงสามารถใช้ถั่วเหลืองเป็นอาหารสำหรับชันโรง แทนอาหารจากธรรมชาติ ในช่วงที่อาหารขาดแคลนได้ (Queiroz et.al, 2019)

เกสรดอกไม้ (pollen) เป็นอาหารหลัก ที่มีความจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและพัฒนาการของชันโรง เป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญและยังเป็นแหล่งวิตามิน แร่ธาตุ กรดอะมิโน และไขมันอีกด้วย เกสรดอกไม้ยังมีความจำเป็นในการพัฒนาของตัวอ่อนในผึ้ง (Schmidt et al., 1987; Louveaux, 1990; Roulston and Cane, 2000) ชันโรง จะเก็บเกสรดอกไม้จากดอกไม้บริเวณโดยรอบ ไปยังรัง โดยจะเก็บไว้ในตระกร้าเก็บเกสรที่อยู่บริเวณปากหลั้ว (pollen basket) โดยทั่วไปแล้วในผึ้ง เกสรดอกไม้เหล่านี้จะเป็นชนิดเดียว เช่น ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera* L.) จะมีเกสรดอกไม้เพียงชนิดเดียวไม่มีความหลากหลาย (Free, 1963; Louveaux, 1990) ต่างจากในชันโรง เช่น ชันโรงขนเงิน (*Tetragonula pagdeni*) จะมีความหลากหลายของเกสรดอกไม้ในรังค่อนข้างสูงเนื่องจากพฤติกรรมในการเก็บเกสรดอกไม้ของชันโรงมีความแตกต่างจากผึ้งคือชันโรงจะไม่เลือกตอมดอกไม้สามารถตอมดอกไม้ ต่างจากผึ้งที่จะเลือกดอกไม้ที่จะเก็บเกสรดอกไม้ ทำให้ในเกสรดอกไม้ภายในรังของชันโรงจะมีความหลากหลายทั้งในด้านของสี, ลักษณะของเกสรดอกไม้, พรรณไม้ และฤทธิ์ทางยาจากพืชชนิดใดจะมากกว่าเกสรจากผึ้ง

ในด้านของคุณภาพทางโภชนาการของเกสรดอกไม้ที่ชันโรงเก็บเกี่ยวมานั้น พบว่าเกสรดอกไม้ในธรรมชาติจะมีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่างร้อยละ 13.25 ถึง ร้อยละ 24.43 (Forcone et al., 2011) ซึ่งใกล้เคียงกับในงานวิจัยนี้สูตรอาหาร A1, A2 และ A3 มีปริมาณโปรตีนอยู่ที่ร้อยละ 25.27, 41.22 และ 48.71 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าปริมาณโปรตีนของเกสรในธรรมชาติของชันโรง นอกจากนี้ยังพบปัญหาในด้านของราคาของวัตถุดิบสำหรับการผลิตอาหารเสริมในงานวิจัยเนื่องจากเกสรผึ้งนั้นมีราคาสูงถึง 500 บาทต่อกิโลกรัม ผู้วิจัยจึงนำผสมกากถั่วเหลืองลงไปเพื่อลดต้นทุนลงเนื่องจากกากถั่วเหลืองมีต้นทุนอยู่ที่ 35 บาทต่อกิโลกรัม นอกจากนี้ยังมีการศึกษาทำการเลี้ยงชันโรง 2 ชนิดด้วยอาหารเสริมจากเกสรและถั่วเหลืองเปรียบอัตราการรอดชีวิตพบว่าชันโรง 2 ชนิด *M. flavolineata* และ *S. aff. postica* ที่ได้รับอาหารเสริมจากเกสรดอกไม้จะมีอายุยืนกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมจากถั่วเหลืองที่ 9 วัน และ 7 วัน ตามลำดับ จากผลข้างต้นอาหารเสริมจากเกสรดีกว่าถั่วเหลือง แต่ว่าไม่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจึงสามารถใช้ถั่วเหลืองเป็นอาหารสำหรับชันโรง แทนเกสรดอกไม้เพียงอย่างเดียวได้ (Queiroz et.al, 2019)

2.4.3 ส่วนประกอบของอาหารเสริมสำหรับชั้นโรง

2.4.3.1 เกสรผึ้ง (Bee Pollen) เป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ของดอกไม้ที่ผึ้งงานเก็บรวบรวมโดยใช้ร่างกายเข้าไปสัมผัสกับอับเกสร ทำให้ละอองเกสรติดขนตามตัว จากนั้นผึ้งจะใช้ขาหลังปิดเกสรให้รวมกันเป็นก้อนและนำไปเก็บไว้ที่บริเวณตระกร้าเก็บเกสร (Pollen Basket) เพื่อนำกลับไปยังรังเพื่อเป็นอาหารของประชากรในรังและตัวอ่อน (รมณี, 2555) เกสรผึ้งได้รับความสนใจในการศึกษาทางชีวภาพทั้งในสัตว์ทดลองและการวิจัยทางคลินิก เนื่องจากมีคุณสมบัติช่วยบำรุงร่างกาย ชะลอความเสื่อมของเซลล์ เสริมสมรรถภาพทางกีฬาและทางเพศ อีกทั้งยังสามารถใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพเนื่องจากเป็นแหล่งของโปรตีนและกรดอะมิโน ผู้ที่นิยมบริโภคมักนำไปผสมในเครื่องดื่ม เช่น กาแฟ น้ำส้ม และน้ำมะนาว บางบริษัทผลิตเกสรผึ้งในรูปแบบเม็ดเพื่อนำไปใช้ในเชิงเวชศาสตร์ป้องกัน (Preventive Medicine) สำหรับกระตุ้นการทำงานของร่างกาย โดยเฉพาะในนักกีฬาหรือผู้ที่ใช้พลังงานสูง ซึ่งแนะนำให้รับประทานวันละ 5 มิลลิกรัม

ในทางการแพทย์ เกสรผึ้งถูกนำมาใช้รักษาภูมิแพ้ โดยให้ในปริมาณต่ำแล้วค่อย ๆ เพิ่มขึ้น เพื่อให้ร่างกายสร้างภูมิต้านทานต่อเกสรดอกไม้ที่อาจก่อให้เกิดอาการแพ้ ในยุโรปมีการใช้เกสรผึ้งเพื่อป้องกันและบรรเทาอาการแทรกซ้อนของไข้หวัด นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติช่วยกระตุ้นการเจริญของเนื้อเยื่อผิวหนัง ส่งเสริมการไหลเวียนของเลือด และให้ความชุ่มชื้นแก่ผิว ทำให้มีการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมบำรุงผิว ครีมรองพื้น และผลิตภัณฑ์ดูแลเส้นผม (รมณี, 2555)



ภาพที่ 2-11 เกสรผึ้ง

ที่มา : <https://media.istockphoto.com/id/538321975/photo/honey-bee-hive>

2.4.3.2. กากถั่วเหลือง (Soybean Meal) เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการบีบหรือสกัดน้ำมันออกจากเมล็ดถั่วเหลือง ซึ่งส่วนใหญ่ใช้เพื่อการบริโภคของมนุษย์เป็นหลัก กากถั่วเหลืองที่เหลือจากกระบวนการดังกล่าวจะมีระดับไขมันต่ำกว่าเมล็ดถั่วเหลืองดิบ แต่ในขณะเดียวกันกลับมีระดับโปรตีนและสารอาหารอื่น ๆ สูงขึ้น (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2558) ด้วยคุณสมบัติที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีคุณภาพสูง กากถั่วเหลืองจึงเป็นวัตถุดิบสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ โดยมีกรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิด อย่างไรก็ตาม กรดอะมิโนประเภท Cystine และ Methionine มีปริมาณต่ำ โดยเฉพาะ Methionine ซึ่งเป็นกรดอะมิโนจำกัดอันดับแรก (Chief Limiting Amino Acid)

เมล็ดถั่วเหลืองดิบประกอบด้วยโปรตีนประมาณร้อยละ 38 และไขมันร้อยละ 16-21 แต่เมื่อนำมาสกัดน้ำมันออกแล้ว โปรตีนในกากถั่วเหลืองจะเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 44-50 ขึ้นอยู่กับวิธีการสกัดน้ำมันและขนาดของเมล็ดถั่วเหลือง (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2558) ปัจจุบัน กากถั่วเหลืองถือเป็นผลพลอยได้ที่สามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ ปุ๋ย หรือแม้กระทั่งถูกกำจัดโดยการฝังกลบ

ประเภทของกากถั่วเหลืองจากกระบวนการสกัดน้ำมัน

2.4.3.2.1) กากถั่วเหลืองไม่กะเทาะเปลือก

กากถั่วเหลืองประเภทนี้ไม่ได้มีการแยกเปลือกออกก่อนเข้าสู่กระบวนการสกัดน้ำมัน จึงมีเส้นใยอาหารสูงกว่า โดยมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 45 ไขมันร้อยละ 0-19 และเส้นใยร้อยละ 7 นอกจากนี้ ยังให้พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้สำหรับสุกรและสัตว์ปีกที่ 3,255 และ 2,276 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ดาวรุ่ง และฉานิกา, 2557)



ภาพที่ 2-12 กากถั่วเหลืองไม่กะเทาะเปลือก

ที่มา : <https://cdn.prod.website-files.com>

2.4.3.2.2.) กากถั่วเหลืองกะเทาะเปลือก

เป็นกากถั่วเหลืองที่มีการแยกเปลือกออกก่อนกระบวนการสกัดน้ำมัน ทำให้มีปริมาณเส้นใยลดลงและโปรตีนสูงขึ้น โดยมีโปรตีนร้อยละ 48 ไขมันร้อยละ 0-1 และเส้นใยร้อยละ 4 ให้พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้สำหรับสุกรและสัตว์ปีกที่ 3,318 และ 2,340 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ดาวรุ่ง และฉานิกา, 2557)



ภาพที่ 2-13 กากถั่วเหลืองกะเทาะเปลือก

ที่มา : <https://static.wixstatic.com/media>

จากองค์ประกอบทางโภชนาการ กากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการสกัดน้ำมันมีคุณค่าทางอาหารสูง เป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพดีที่มีกรดอะมิโนจำเป็นครบถ้วนในสัดส่วนที่เหมาะสม อีกทั้งยังมีระดับเยื่อใยต่ำ ทำให้สัตว์สามารถย่อยและนำไปใช้ประโยชน์ได้ดี นอกจากนี้ กากถั่วเหลืองยังมีความสม่ำเสมอของคุณค่าทางโภชนาการ และมีปริมาณสารพิษหรือสารต้านโภชนาการในระดับต่ำ ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์ด้วยเหตุนี้ กากถั่วเหลืองจึงสามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนหลักในสูตรอาหารสัตว์ได้หลากหลายชนิดและทุกช่วงอายุ โดยไม่มีข้อจำกัดในการใช้ อีกทั้งยังมีการผลิตเพียงพอสำหรับอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ทั้งในประเทศและระดับโลก (ดาวรุ่ง และฉานิกา, 2557)

2.4.3. จุลินทรีย์โพรไบโอติก (Probiotic) หมายถึงจุลินทรีย์ที่มีชีวิตหรือเซลล์ที่ตายแล้ว ซึ่งเมื่อได้รับในปริมาณที่เหมาะสมสามารถส่งผลดีต่อสุขภาพของมนุษย์และกระตุ้ระบบภูมิคุ้มกันให้ทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ (Fuller, 1989; Holzapfel and Schillinger, 2002) ตามคำจำกัดความของ *International Life Science Institute* (ILSI) โพรไบโอติกไม่ได้หมายถึงเพียงแค่จุลินทรีย์ที่ให้

ประโยชน์ต่อร่างกายเท่านั้น แต่ยังรวมถึงผลิตภัณฑ์อาหารที่มีจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ในปริมาณที่สามารถส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภคได้ ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของอาหารโพรไบโอติก

ในปี 2002 องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) และองค์การอนามัยโลก (WHO) ได้กำหนดว่าโพรไบโอติกคือจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งเมื่อบริโภคในปริมาณที่เพียงพอ จะก่อให้เกิดผลดีต่อสุขภาพ อย่างไรก็ตาม โพรไบโอติกในรูปของเซลล์ที่ตายแล้ว ยังคงมีองค์ประกอบที่มีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพ เช่น โปรตีนของเซลล์ สารพันธุกรรม (DNA และ RNA) ผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ เอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ และลิโปโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งสารเหล่านี้มีส่วนช่วยในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ (Chuang et al., 2007; Maeda et al., 2009; Nan et al., 2009)

มีรายงานการศึกษาว่าชันโรง ซึ่งเป็นแมลงในกลุ่มเดียวกับผึ้ง มีความสัมพันธ์กับจุลินทรีย์หลากหลายชนิด โดยกระบวนการหมักของจุลินทรีย์เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของเกสรและน้ำผึ้ง ช่วยยืดอายุการเก็บรักษา รวมถึงมีอิทธิพลต่อการจัดการภายในรังและกระบวนการพัฒนาตัวอ่อนของชันโรง (Paula et al., 2023)

2.5 การเพาะเลี้ยงแมลงในห้องปฏิบัติการ

Williams et al., (2013) ได้ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงตัวเต็มวัยของผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) โดยอธิบายถึงวิธีการเลี้ยงผึ้งอย่างถูกต้อง วิธีการเลือกกรง สภาพการฟักไข่ และอาหารที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ผลการทดลองที่ทางชีวภาพและเปรียบเทียบได้ ในภาชนะที่เรียกว่า เคจ (Cage) โดยทดลองเลี้ยงกับผึ้งระยะตัวเต็มวัยที่เพิ่งเกิดใหม่ เนื่องจากเป็นระยะตัวเต็มวัยที่ค่อนข้างสะอาด สัมผัสกับรังและสภาพแวดล้อมน้อยกว่า ในสภาพแวดล้อมที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นที่จำกัด เรียกสภาวะนี้อีกอย่างว่า สภาวะในสภาพกึ่งธรรมชาติ (In vitro) เพื่อหาสภาพแวดล้อมโดยเฉพาะอุณหภูมิและความชื้น รวมถึงปริมาณอาหารที่เหมาะสม และเพื่อการศึกษาด้านปรสิตวิทยา พืชวิทยา หรือ สรีรวิทยาของผึ้ง โดยแบ่งเป็นหลักเกณฑ์ต่างๆ ตามนี้

2.5.1 กรงสำหรับการเลี้ยงผึ้งในห้องปฏิบัติการ

กรงแยกส่วนใหญ่ไม่ค่อยได้ใช้กันนอกการศึกษาวิจัยพฤติกรรมหรือการเรียนรู้ ซึ่งต่างจากกรงแบบมีกรอบและแบบกักเก็บ หลักการหลายประการที่กล่าวถึงข้างต้นสำหรับกรงแบบมีกรอบและแบบกักเก็บยังใช้กับกรงแยกส่วนได้ด้วย เช่น ความสำคัญของการจัดเตรียมกรงที่ปลอดภัยและมีบรรยากาศที่ดี

2.5.2 กรงที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงผึ้งในห้องปฏิบัติการ

กรงแบบมีกรอบ (frame cage) จะช่วยให้สามารถแขวนกรอบเพียงอันเดียวภายในกรงเลี้ยงได้ และมีช่องระบายอากาศหนึ่งหรือสองด้านที่สามารถเลื่อนออกได้เพื่อให้เข้าถึงกรอบได้ แสดงในภาพที่ 2-14

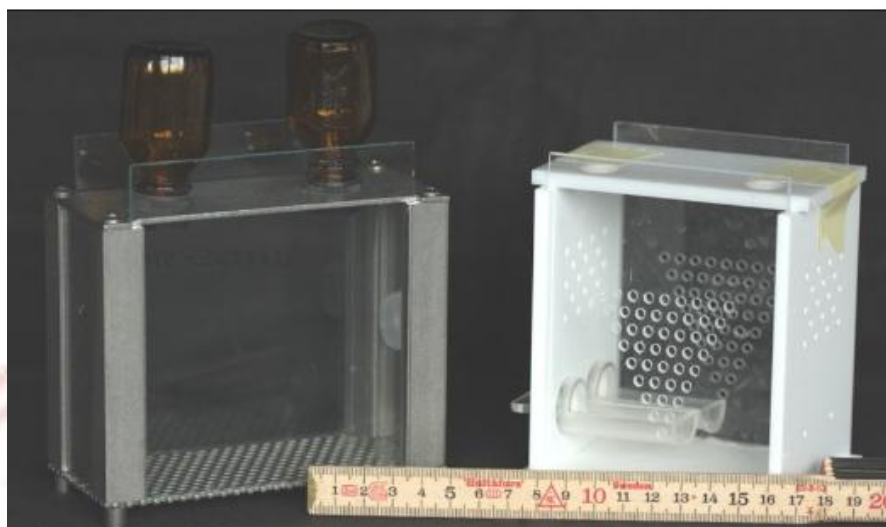


ภาพที่ 2-14 กรงเลี้ยงผึ้งแบบมีกรอบ (frame cage)

ที่มีโครงขนาดใหญ่ ประกอบด้วยปลอกไม้ ตะแกรงโลหะ แผ่นกระจกลื่นถอดออกได้ และอุปกรณ์ให้อาหาร 2 ชั้น

ที่มา : (Williams et al., 2013)

กรงเลี้ยงผึ้งของแบบดั้งเดิมจะมีรูปร่างคล้ายกับกรงแบบมีกรอบ และยังมีด้านหนึ่งหรือสองด้านที่สามารถถอดออกได้ภาพที่ 2-15 และมีดีไซน์อื่นๆ ที่เป็นทรงถ้วย ภาพที่ 2-16 หรือเป็นการดัดแปลงดีไซน์คลาสสิกโดยกรงจะวางตะแกรงเพื่อให้สามารถถอดส่วนบนออกได้ ภาพที่ 2-17



ภาพที่ 2-15 กรงเลี้ยงผึ้งแบบดั้งเดิม

ตัวอย่างกรงเลี้ยงผึ้งแบบดั้งเดิม ที่มีด้านข้างโปร่งใสและถอดออกได้

มีรูระบายอากาศ และช่องป้อนอาหารหลายช่อง

ที่มา : (Williams et al., 2013)



ภาพที่ 2-16 กรงเลี้ยงแบบถ้วย

กรงเลี้ยงสัตว์ทรงถ้วยพร้อมฐานที่ถอดออกได้ รูระบายอากาศหลายรู และอุปกรณ์ให้อาหารสองชั้น

ที่มา : (Williams et al., 2013)



ภาพที่ 2-17 กรงเลี้ยงที่ดัดแปลงจากดีไซน์คลาสสิก

กรงเก็บของแบบถอดได้ มีรูระบายอากาศหลายรู และช่องป้อนอาหาร

ที่มา : (Williams et al., 2013)

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นว่าภาชนะที่นำมาทดลองเลี้ยงจะทำมาจากวัสดุที่ราคาไม่แพง เข้าถึงและจัดการได้ง่าย ภาชนะทำจากถ้วยพลาสติก ฐานถอดออกได้ ด้านข้างของถ้วยเจาะรูระบายอากาศ มีช่องสำหรับใส่หลอดอาหารด้านบน การเจาะรูระบายอากาศให้เพียงพอ เพื่อลดความเสี่ยงของการปนเปื้อนจากเชื้อโรคและสารเคมีตกค้างระหว่างเพาะเลี้ยงในพื้นที่เดียวกัน ควรปิดรูระบายอากาศด้วยกระดาษกรองหรือวัสดุอื่นที่คล้ายกันและมีรูสำหรับใส่หลอดอาหาร (Microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ตัดปลายหลอดให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ถึง 7 มิลลิเมตร เพื่อให้ง่ายต่อการกินของผึ้ง ภาพที่ 2-18 นอกจากในเรื่องของภาชนะในการเลี้ยงเลี้ยง สภาวะในการเลี้ยงก็ถือเป็นอีกหนึ่งปัจจัยสำคัญเช่นเดียวกัน และในงานวิจัยได้นำรูปแบบทั้งหมดข้างต้นมาปรับใช้แสดงดังภาพที่ 2-19



ภาพที่ 2-18 ภาพสำหรับเลี้ยงผึ้งพันธุ์ที่ประกอบด้วยหลอดใส่อาหาร
ที่มา : (Williams et al., 2013)



ภาพที่ 2-19 ภาพหลอดเลี้ยงผึ้งที่ปรับใช้งานวิจัยนี้

2.2.3 ความชื้น

การติดตามและบันทึกความชื้นสัมพัทธ์ภายในตู้ฟักมีความสำคัญอย่างยิ่งเมื่อดูแลผึ้งงานในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากปัจจัยแวดล้อม เช่น การเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศภายนอก หรือ แม้แต่การเปิด-ปิดประตูตู้ฟัก อาจส่งผลกระทบต่อระดับความชื้นสัมพัทธ์ภายในตู้ได้อย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น ควรใช้เครื่องมือวัดที่มีความแม่นยำและเชื่อถือได้ เช่น เครื่องบันทึกข้อมูลแบบดิจิทัล เพื่อตรวจสอบและบันทึกค่าความชื้นสัมพัทธ์รวมถึงอุณหภูมิเป็นระยะ

เมื่อต้องการจำลองสภาวะที่ใกล้เคียงกับรังผึ้งตามธรรมชาติและตอบสนองความต้องการของผึ้งงาน แนะนำให้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ให้อยู่ในช่วง ร้อยละ 60-70 ตลอดระยะเวลาการทดลอง ทั้งนี้ ควรมีการทดสอบเบื้องต้นก่อนเริ่มการทดลองเพื่อกำหนดความถี่ในการเติมน้ำ เพื่อ

รักษาความชื้นให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม เนื่องจากปัจจัยต่างๆ เช่น ขนาดของตู้ฟัก และอัตราการแลกเปลี่ยนอากาศระหว่างตู้ฟักกับสภาพแวดล้อมภายนอก สามารถส่งผลต่อความชื้นสัมพัทธ์ได้อย่างมาก

2.2.5 แสง

ตามธรรมชาติ ผึ้งใช้ชีวิตส่วนใหญ่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีดภายในรัง อย่างไรก็ตาม วงจรแสงและความมืดมีบทบาทสำคัญต่อพฤติกรรมกรรมการหาอาหาร โดยเฉพาะในช่วงปลายอายุของผึ้งงาน (Moore, 2001) ผึ้งบางชนิด เช่น *Apis mellifera adansonii* สามารถสร้างรังในพื้นที่เปิดโล่งได้ (Fletcher, 1978)

การตอบสนองต่อแสงของผึ้ง (phototaxis) แตกต่างกันไปตามอายุ ความเข้มของแสง และความยาวคลื่นของแสง (Menzel and Greggers, 1985; Ben et al., 2003; Erber et al., 2006) ทั้งนี้ การได้รับแสงอย่างต่อเนื่องอาจมีผลต่อพฤติกรรมของผึ้ง เช่น การเก็บสะสมอาหารในกระเพาะน้ำผึ้ง (Free and Williams, 1972) ดังนั้น ในการเลี้ยงผึ้งงานในห้องปฏิบัติการ นักวิจัยนิยมควบคุมให้อ้อยอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีดสนิท (Malone and Stefanovic, 1999; Maistrello et al., 2008; Alaux et al., 2009)

เพื่อให้เหมาะสมกับการเลี้ยงผึ้งงานในตู้ฟัก ควรควบคุมให้อ้อยอยู่ในสภาวะที่มีด โดยควรทำงานภายใต้แสงสลัวระหว่างการตรวจสอบและดูแล หากจำเป็นต้องใช้แสง ควรใช้แสงสีแดงที่มีช่วงคลื่น 660-670 นาโนเมตร ซึ่งอยู่นอกเหนือขอบเขตการมองเห็นของผึ้ง (Menzel and Backhaus, 1991) สำหรับการให้แสงในช่วงคลื่นนี้ สามารถใช้หลอดไฟเฉพาะทาง หรือดัดแปลงหลอดไส้ปกติด้วยฟิลเตอร์สีแดง เพื่อให้แสงที่ปล่อยออกมาอยู่ในช่วงคลื่นที่เหมาะสม

2.2.6 การระบายอากาศ

ผึ้งจำเป็นต้องได้รับออกซิเจนอย่างต่อเนื่องเพื่อความอยู่รอด โดยปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในรังสามารถเพิ่มขึ้นสูงกว่าระดับปกติในบรรยากาศ (ร้อยละ 0.04) ได้มาก (Nicolas and Sillans, 1989) ดังนั้น ผึ้งใช้กลไกทางชีวภาพ เช่น การกระพือปีกและการแลกเปลี่ยนก๊าซ เพื่อลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ภายในรังให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม ซึ่งโดยทั่วไปอยู่ระหว่างร้อยละ 0.1 - 4.3 (Seeley, 1974)

ภายในตู้ฟักที่มีการระบายอากาศไม่เพียงพอ อาจทำให้ระดับคาร์บอนไดออกไซด์สะสมสูงขึ้น ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผึ้ง ดังนั้น ควรออกแบบระบบระบายอากาศที่สามารถแลกเปลี่ยนอากาศกับสภาพแวดล้อมภายนอกได้อย่างเหมาะสม เพื่อรักษาคุณภาพอากาศภายในตู้ฟักให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อการเจริญเติบโตของผึ้งงาน

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Lima et al. (2021) ได้ศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงการใช้ที่ดินและสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงต่อชันโรง (*Melipona spp.*) ในบราซิล โดยใช้แบบจำลองทางนิเวศวิทยา (Ecological Niche Modelling) เพื่อคาดการณ์การเปลี่ยนแปลงของแหล่งที่อยู่อาศัยพบว่าระหว่างปี 2000 ถึง 2014 พื้นที่ที่เหมาะสมต่อการอยู่อาศัยของชันโรงลดลง และในอนาคตบางสายพันธุ์อาจเผชิญกับการลดลงของแหล่งที่อยู่อาศัย เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นและการนำพื้นที่ป่าไปใช้ในการเกษตร ซึ่งส่งผลให้พื้นที่คุ้มครองไม่สามารถรักษาพื้นที่ที่เหมาะสมสำหรับชันโรงได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Giannini et al. (2017) ได้ศึกษาผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อชันโรงสายพันธุ์ *Melipona subnitida* โดยใช้แบบจำลองการกระจายตัวของสายพันธุ์ พบว่าการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศทำให้พื้นที่ที่เหมาะสมต่อการอยู่อาศัยของชันโรงลดลงและถูกแบ่งแยกออกจากกัน ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการกระจายตัวของประชากรและการสืบพันธุ์ นักวิจัยได้เสนอแนะให้อนุรักษ์และฟื้นฟูพื้นที่ที่เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของชันโรง

Hrncir et al. (2019) ได้ศึกษาพฤติกรรมการปรับตัวของชันโรง *Melipona subnitida* ซึ่งอาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมที่รุนแรง เช่น ป่าแห้งแล้งในบราซิล (Caatinga) พบว่าชันโรงชนิดนี้สามารถรักษาอาณาเขตของตัวเองให้อยู่รอดได้ แม้อยู่ในพื้นที่ที่มีอุณหภูมิสูง และมีช่วงฤดูที่ขาดแคลนอาหาร กลยุทธ์การเอาตัวรอดของพวกมันคือการสะสมอาหารเมื่อทรัพยากรอุดมสมบูรณ์ โดยเลือกแหล่งอาหารที่ให้พลังงานสูงและมีคุณค่าทางโภชนาการดี

Queiroz et al. (2019) ศึกษาผลของอาหารเสริมที่มีส่วนผสมจากถั่วเหลืองต่ออายุขัยของชันโรงในสองสายพันธุ์ *Melipona flavolineata* และ *Scaptotrigona aff. postica* พบว่า ชันโรงที่ได้รับอาหารจากเกษตรธรรมชาติมีอายุขัยเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารจากถั่วเหลือง โดย *M. flavolineata* ยืนยาวกว่า 9 วัน (เพิ่มขึ้น 21.8%) และ *S. aff. postica* ยืนยาวกว่า 7 วัน (เพิ่มขึ้น 12.7%) ซึ่งสามารถยืนยันว่าอาหารเสริมจากถั่วเหลืองสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารในช่วงที่ขาดแคลนได้

Saboor et al. (2021) ได้ทำการศึกษาอาหารเสริมที่มีส่วนผสมจากแป้งถั่วเหลือง, แป้งข้าวโพด และแป้งถั่วลันเตาออก พบว่า แป้งถั่วเหลืองช่วยให้ผึ้งมีปริมาณการกินอาหารและน้ำผึ้งสูงกว่าอาหารชนิดอื่น ๆ

Straub et al. (2024) ได้ศึกษาขนาดของต่อมไฮโปฟาริงซ์และปริมาณโปรตีนในชันโรง พบว่า ชันโรงที่ได้รับเกสรดอกไม้มีขนาดของต่อมไฮโปฟาริงซ์สูงกว่าอาหารสูตรควบคุม (สารละลายน้ำตาลซูโครส) และขนาดของต่อมไฮโปฟาริงซ์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามช่วงอายุ

Paula et al. (2023) ศึกษาการอยู่ร่วมกันของยีสต์ *Zygosaccharomyces sp.* SDBC3 กับ ชันโรงชนิด *Scaptotrigona depilis* โดยยีสต์ชนิดนี้เติบโตภายในเซลล์ไข่ (brood cells) และตัวอ่อนจะกินมันเป็นอาหาร ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญในการเจริญเติบโตของตัวอ่อน และยีสต์ชนิดนี้สะสมสารเอสโกสเตอรอล (ergosterol) ที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอคไดสเตอรอยด์ (ecdysteroid) ซึ่งจำเป็นต่อการเข้าดักแด้

Cerqueira et al. (2021) พบว่าชันโรงในสกุล *Melipona* ไม่มีแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในลำไส้ของผึ้งและผึ้งบัมเบิลบี แต่พบว่าในลำไส้ของชันโรงมีแบคทีเรีย *Bacillus sp.* ซึ่งมีถิ่นที่เกี่ยวกับ การผลิตสารต้านจุลชีพ

Zhang et al. (2022) พบว่าทรีฮาโลสเป็นน้ำตาลหลักในน้ำผึ้งชันโรง โดยปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสในน้ำผึ้งแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันระหว่าง 7-57% ของน้ำหนักทั้งหมด โดยคาดว่าเกิดจากปริมาณเอนไซม์ Trehalulose synthase ในต่อมไฮโปฟาริงซ์ นอกจากนี้ น้ำตาลทรีฮาโลสในน้ำผึ้งชันโรงมาจากซูโครสในน้ำหวานดอกไม้

Ahmad et al. (2021) ศึกษาต่อม HPGs ในแมลงกลุ่ม *Hymenoptera* พบว่า ต่อม HPGs จะพัฒนาได้สูงสุดในผึ้งงาน โดยเฉพาะในช่วงผึ้งที่เลี้ยงที่มีต่อมขนาดใหญ่และพัฒนาเต็มที่ เนื่องจากทำหน้าที่ผลิตนมผึ้ง (Royal jelly) ซึ่งเป็นอาหารสำคัญของนางพญาและตัวอ่อน

Vanessa et al. (2019) ได้ศึกษาขนาดของ acini ในต่อม HPGs ของผึ้ง *Apis mellifera* โดยเปรียบเทียบผึ้งที่ได้รับเกสรดอกไม้เป็นอาหารกับผึ้งที่ไม่ได้รับเกสรดอกไม้ ผลการศึกษาพบว่าผึ้งที่ได้รับเกสรดอกไม้มีขนาดของ acini ใหญ่กว่าผึ้งที่ไม่ได้รับเกสรดอกไม้ถึง 19.35% ซึ่งบ่งชี้ว่าโปรตีนที่ผึ้งได้รับจากเกสรดอกไม้มีผลต่อขนาดของ acini ในต่อม HPGs

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

3.1 สารเคมี อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 สารเคมี

- เอทานอล (Ethanol) 95 % (v/v)
- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
- โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$)
- 2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)
- น้ำปราศจากไอออน (Deionized Water; DI)
- น้ำกลั่น (Distilled Water)
- น้ำตาลทราย
- Diethyl ether
- Quick Start™ Bradford 1x Dry Reagent
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth Agar (NA, ยี่ห้อ HiMedia™, India)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Malt Broth (YMA, ยี่ห้อ HiMedia™, India)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth (MHA) ยี่ห้อ HiMedia™, India)
- ผงวุ้น (Agar powder)
- สารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO)
- กรดอะซิติก (CH_3COOH) เข้มข้นร้อยละ 98
- สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (H_2SO_4)
- ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน (Ampicillin)
- ยาด้านเชื้อราคีโตโคนาโซล (Ketoconazole)

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)
- กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Stereo microscope)
- เครื่องแก้ว ยี่ห้อ : Duran และ Borosil
- กระบอกตวง (Graduated cylinder)
- ขวดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 25, 50 และ 100 มิลลิลิตร

- หลอดหยด (Dropper)
- ช้อนตักสาร (Spatula)
- หลอดทดลอง (Test Tube)
- เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ บริษัท Bacthai
- เครื่อง Vortex บริษัท Bionex
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
- ไมโครปิเปต ขนาด 20 100 200 และ 1,000 ไมโครลิตร บริษัท Eppendorf
- ตู้ปลอดเชื้อ (Biological Safety Cabinet) รุ่น NU-440-400E
- ตู้เพาะเชื้ออุณหภูมิต่ำ ยี่ห้อ BINDER ประเทศเยอรมนี รุ่น KE720 MACRO
- ไม้สวอป (Swab)
- ไม้คอร์ก (Cork)
- จานพลาสติกสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dishes)
- เครื่องเขย่าสาร (Orbital shaker) บริษัท Gibthai Co.,Ltd.
- แท่งแก้วคนสาร
- แท่งแก้วอ (Spreader)
- เครื่องระเหยสุญญากาศ
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง : ยี่ห้อ Mettler Toledo, รุ่น MS3002TS/00
- ตู้อบความร้อน : ยี่ห้อ Binder, รุ่น FED240 17
- ตู้ดูดควัน (Fume hood)
- โถแก้วดูดความชื้น (Desiccator)
- เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลต (Microplate reader)

3.2 ปรับปรุงตำรับอาหารเสริมให้เหมาะสมกับชั้นโรงخنเงิน

เตรียมอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงโดยผสมส่วนประกอบของอาหารเสริมโดยส่วนผสมแห้งทุกชนิดได้ผ่านการลดขนาดของอนุภาคเล็กกว่า 0.50 มิลลิเมตร จากนั้นส่วนผสมผสมที่เป็นของเหลวให้เข้ากันตามสูตรอาหารดังต่อไปนี้

สูตร A1 เป็นตัวแทนของอาหารแห้งทางการค้า ได้แก่ เกสรผึ้ง ร้อยละ 30 กากถั่วเหลือง ร้อยละ 30 น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 15 น้ำสะอาด ร้อยละ 22 และ ยีสต์สกัดจากอาหารสัตว์ ร้อยละ 3

สูตร A2 เป็นอาหารเสริมที่มีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่พบในถ้วยหมักเกสรของชั้นโรง ได้แก่ เกสรผึ้ง ร้อยละ 30 กากถั่วเหลือง ร้อยละ 30 น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 15 น้ำสะอาด ร้อยละ 22 และ

จุลินทรีย์โพรไบโอติก ได้แก่ *Starmarella* sp. CMU Y-15, *Zygosaccharomyces* sp. CMU และ *Lactobacillus johnsonii* TSU-11 ร้อยละ 1 ต่อจุลินทรีย์ โดยใช้ความเข้มข้นของเชื้อที่ 1.5×10^8 CFU

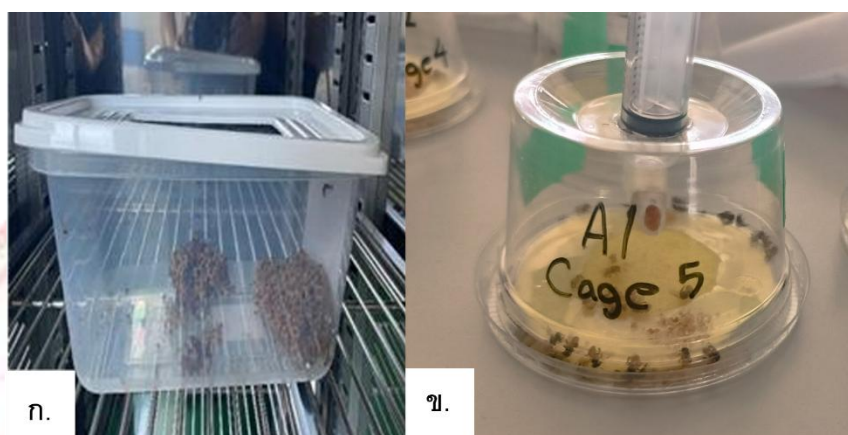
สูตร A3 เป็นอาหารเสริมที่มีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่พบในถั่วหมักเกษตรของชั้นโรงเช่นเดียวกับ A2 แต่เปลี่ยนจากกากถั่วเหลืองเป็นโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง (soy bean hydrolysate) ได้แก่ เกสรผึ้ง ร้อยละ 30 กากถั่วเหลือง ร้อยละ 30 น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 15 น้ำสะอาด ร้อยละ 22 และ จุลินทรีย์โพรไบโอติก ได้แก่ *Starmarella* sp. CMU Y-15, *Zygosaccharomyces* sp. CMU และ *Lactobacillus johnsonii* TSU-11 ร้อยละ 1 ต่อจุลินทรีย์ โดยใช้ความเข้มข้นของเชื้อที่ 1.5×10^8 CFU

จากนั้น บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ก่อนนำไปใช้งาน เพื่อให้จุลินทรีย์เจริญ และช่วยสลายโปรตีนในถั่วเหลืองและเกสรดอกไม้ให้ชั้นโรงสามารถนำไปใช้ได้ง่ายขึ้น ตลอดจนสร้าง สารสำคัญต่าง ๆ ที่มีความจำเป็นต่อการเจริญของชั้นโรงขนเงิน วัตถุดิบที่เป็นของแข็งจะนำมาฆ่าเชื้อ โดยใช้ UV และของเหลว ยกเว้นน้ำผึ้งจะนำไปกรองผ่านกระดาษกรองที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรูพรุน 0.20 ไมครอน ก่อนนำมาใช้งาน

3.3 การเตรียมชั้นโรงขนเงินเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเสริมต่อชั้นโรงขนเงินในระดับห้องปฏิบัติการ

เพาะเลี้ยงชั้นโรงโดยการนำไข่แก่ของชั้นโรงขนเงินจากรังชั้นโรงขนเงินอย่างน้อย 5 รัง จากนั้น นำมาวางในถ้วยพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนที่เจาะรูและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60–70 ในสภาวะมืด เป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง (ดัดแปลงจาก Jehlík et al., 2019) โดยตรวจสอบชั้นโรงตัวเต็มวัยทุก 6 ชั่วโมง เมื่อชั้นโรงฟักออกจากดักแด้ ใช้ฟูกันนำชั้นโรงใส่ในถ้วยทดลอง โดยในแต่ละชุดการทดลองจะใช้ชั้นโรง 30 ตัวต่อถ้วย ชุดการทดลองละ 5 ถ้วย หรือใช้ชั้นโรงขนเงิน 150 ตัวต่อสูตรอาหาร จากนั้นนำชั้นโรงมาเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ ร่วมกับการให้สารละลายน้ำตาลซูโครสร้อยละ 50 แบบไม่จำกัด (*ad libitum*) โดยอาหารเสริมที่ใช้ทดสอบจะมีจำนวน 3 สูตร ได้แก่ ชุดควบคุม (สารละลายน้ำตาลซูโครสร้อยละ 50), อาหารเสริมสูตร A1, อาหารเสริมสูตร A2 และ อาหารเสริมสูตร A3 โดยในแต่ละถ้วยจะให้อาหารเสริมปริมาณ 1 กรัม โดยบรรจุในหลอดพลาสติก และทำการเปลี่ยนอาหารเสริมและสารละลายน้ำตาลซูโครสร้อยละ 50 ทุก 3 วัน เพื่อป้องกันการเกิดเชื้อรา ศึกษาประสิทธิภาพของอาหารเสริมโดยวัดอัตราการรอดชีวิตของชั้นโรงทุกวัน และสุ่มตัวอย่างชั้นโรงจากแต่ละชุดการทดลอง ชุดการทดลองละละ 5 ตัว เพื่อนำมาวัดขนาดของต่อมไฮโปฟาริงซ์ (HPGs) และศึกษาปริมาณไขมันในร่างกายของชั้นโรง จากนั้นวิเคราะห์ข้อมูลอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ยของชั้นโรงขนเงินระหว่างกลุ่มวิเคราะห์ ด้วยวิธีของ Kaplan–Meier Method โดยใช้ชุดซอฟต์แวร์ IBM SPSS Statistics Campus Edition (SPSS 28.0.0.0) สำหรับ Windows (64)

เพื่อหาสูตรอาหารเสริมที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการเพิ่มอัตราการรอดชีวิตและการพัฒนาของ HPGs สำหรับชันโรงขนเงิน



ภาพที่ 3-1 การเลี้ยงชันโรงภายใต้ห้องปฏิบัติการ
(ก) ไข่แก่ชันโรง (ข) ถ้วยทดลองและการให้อาหารชันโรง

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเสริมต่อชันโรงขนเงินในห้องปฏิบัติการ

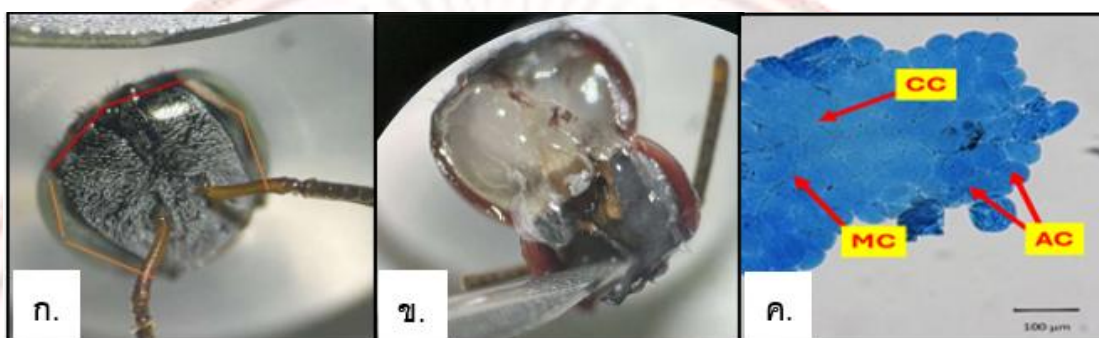
3.4.1 อัตราการรอดชีวิตของชันโรงขนเงิน

ทำการตรวจสอบถ้วยทดลองทุก ๆ 18 ถึง 24 ชั่วโมง โดยตรวจสอบชันโรงที่อยู่ภายในถ้วยทดลองอย่างระมัดระวัง หากชันโรงมีการหยุดนิ่งไม่ขยับ ให้ใช้ฟู่กันสัมผัสอย่างแผ่วเบาเพื่อสำรวจว่าชันโรงนั้นยังมีชีวิตหรือไม่ หากชันโรงตายแล้วให้นำซากชันโรงออกจากถ้วยทดลองทันที บันทึกจำนวนชันโรงที่ตายในแต่ละวันเพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์อัตราการรอดชีวิตของชันโรงขนเงินในการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการจากการเลี้ยงด้วยอาหารเสริมสูตรต่าง ๆ

3.4.2 ขนาดของต่อมไฮโปฟาริงจ์ (hypopharyngeal gland: HPGs)

ใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อทำให้ชันโรงสลบ จากนั้นสับตัวอย่างชันโรงที่อยู่ในระหว่างทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเสริมในแต่ละชุดการทดลอง ชุดการทดลองละอย่างน้อย 5 ตัว จากนั้น ตัดหัวชันโรงด้วยมีดผ่าตัด หลังจากนั้นนำหัวชันโรงมาผ่าด้วยเข็ม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Stereo Microscope) โดยใช้ปลายเข็มฉีดยา เปิดผิวหนังนอกของหัวชันโรงด้วยความระมัดระวัง นำส่วนประกอบภายในหัวของชันโรงไปวางบนกระดาษกรองที่มีน้ำยา Quick Start™ Bradford 1x Dry Reagent #500-0205 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร (Rahman et al., 2014) กำจัดเนื้อเยื่ออื่น ๆ ออกจากต่อม HPGs และนำเฉพาะส่วนของ HPGs ไปวัดขนาดภายใต้กล้องจุลทรรศน์

แบบใช้แสงที่มีกำลังขยาย 100 เท่า (microscope) (Selina et al., 2023) จากนั้น วัดขนาดของ acini อย่างน้อย 30 acini ต่อชันโรง 1 ตัว บันทึกข้อมูลและนำข้อมูลขนาดของ acini ของ hypopharyngeal gland ของชันโรงชนเงินระหว่างกลุ่มได้รับการวิเคราะห์ ด้วยวิธี one-way Anova Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ชุดซอฟต์แวร์ IBM SPSS Statistics Campus Edition (SPSS 28.0.0.0) สำหรับ Windows (64)



ภาพที่ 3-2 ขั้นตอนการศึกษาขนาดของต่อม HPGs

(ก) บริเวณที่เปิดผิวหนังนอกของชันโรง (ข) อวัยวะภายในหัวของชันโรง (ค) การย้อมสีและกำจัดเนื้อเยื่ออื่น ๆ ภายในหัวชันโรง

3.4.3 การวัดปริมาณไขมันในช่องท้องของชันโรง (Aneta et.al, 2021)

การวัดปริมาณไขมันของชันโรงชนเงินที่ได้รับอาหารเสริมสูตรต่าง ๆ จะทำการเก็บตัวอย่างชันโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสูตรต่าง ๆ จากถ้วยเลี้ยงในวันที่ 0, 3, 7, 10, 17, 24 และ 30 ของการทดลอง โดยทำให้ชันโรงสลบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ สุ่มเลือกชันโรงชุดการทดลองละ 5 ตัว จากนั้นใช้มีดผ่าตัดตัดส่วนท้องของชันโรงแล้วนำส่วนท้องของชันโรงแต่ละตัวใส่ในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปอบที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักแห้ง จากนั้นนำไปแช่ในสารละลายไดเอทิลอีเทอร์ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้แห้ง จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักอีกครั้ง และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างน้ำหนักก่อนและหลังการสกัดไขมัน ซึ่งค่าที่ได้จะได้ค่าเป็นน้ำหนักส่วนไขมันในร่างกายของชันโรง ข้อมูลการวัดปริมาณไขมันในชันโรงชนเงินจะได้รับการวิเคราะห์ ด้วยวิธี ของ one-way Anova Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ชุดซอฟต์แวร์ IBM SPSS Statistics Campus Edition (SPSS 28.0.0.0) สำหรับ Windows (64)

3.5 การทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเสริมต่อชั้นโรงขนเงินในระดับภาคสนาม

ทำการคัดเลือกสูตรอาหารเสริมที่เหมาะสมที่สุดจากการทดสอบชั้นโรงขนเงินในห้องปฏิบัติการ เพื่อนำไปใช้ในการเลี้ยงชั้นโรงขนเงินในระดับภาคสนาม โดยดำเนินการทดลองในพื้นที่จังหวัดระยอง ขอนแก่น และสมุทรปราการ คัดเลือกรังชั้นโรงขนเงินที่สมบูรณ์ ซึ่งต้องประกอบด้วยนางพญา ไข่อ่อน ไข่แก่ ถ้วยเกอร์ และถ้วยน้ำหวาน โดยกำหนดจำนวนขั้นต่ำ 5 รังต่อสูตรอาหาร จากนั้นบันทึกรหัสรังที่ใช้ทดสอบ พร้อมถ่ายภาพองค์ประกอบของรังเทียบกับตลับเมตร

เตรียมอาหารเสริม แบ่งบรรจุในถุงพอยด์ปิดสนิท ขนาด 5 กรัมต่อถุง เพื่อให้เกษตรกรใช้งาน สะดวกและเพื่อควบคุมปัจจัยที่อาจส่งผลกระทบต่อผลการทดลอง ทำการให้อาหารเสริม 5 กรัมต่อรัง โดยใส่ในภาชนะพลาสติกและวางไว้บริเวณพื้นรัง เปลี่ยนอาหารทุก 7 วัน

ให้เกษตรกรสังเกตการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบภายในรังและเปรียบเทียบก่อนและหลังให้อาหาร โดยถ่ายภาพภายในรังทุก ๆ 7 วัน เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 28 วัน จากนั้นนำภาพถ่ายมาวิเคราะห์และคำนวณร้อยละการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบรังโดยใช้โปรแกรม ImageJ ในการประมวลผลข้อมูล

3.6 การทดสอบความปลอดภัยในด้านของ ปริมาณโลหะหนักทั้ง 6 ชนิด และ ทางด้านจุลชีววิทยาน้ำผึ้งชั้นโรงขนเงิน

การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในน้ำผึ้งชั้นโรงด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES) ทำได้โดยนำตัวอย่างน้ำผึ้งชั้นโรง ปริมาณ 0.05 กรัม ใส่ Vessel สำหรับการย่อยเติมกรดไนตริก (HNO₃) ความเข้มข้นร้อยละ 70 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปย่อยด้วยเครื่องย่อยระบบไมโครเวฟ จากนั้นกรองตัวอย่างด้วยตัวกรอง เซมิเมดิยาแบบไม่ปลอดเชื้อ (Syringe filter) ขนาดรูพรุน 45 ไมโครเมตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ปริมาณธาตุด้วยเทคนิค ICP-OES ปริมาณธาตุที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ปริมาณธาตุด้วยเทคนิค ICP-OES จะถูกนำไปคำนวณหาปริมาณธาตุจากตัวอย่าง ได้แก่ โครเมียม (Cr) ทองแดง (Cu) แคดเมียม (Cd) โคบอลต์ (Co) สารหนู (As) และตะกั่ว (Pb)

ในการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา จะทำการสุ่มตัวอย่างน้ำผึ้งชั้นโรง ประมาณ 10 - 20% ของจำนวนที่อยู่ในแต่ละ Batch หรือคิดเป็น 5 - 10% ของน้ำหนักตัวอย่างอาหาร โดยการสุ่มตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์ต้องดำเนินการ 3 ซ้ำ (Triplicate) การวิเคราะห์จุลินทรีย์จะดำเนินการตามมาตรฐานที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) พ.ศ. 2563 และมาตรฐานจากสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ เช่น มกษ. 8003-2556, มกษ. 8005-2567 และ มาตรฐานน้ำผึ้งชั้นโรง (มาเลเซีย) ในการตรวจวิเคราะห์ จะทำการตรวจนับ จุลินทรีย์ทั้งหมด,

ยีสต์และรา รวมถึงตรวจหาจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคทางอาหาร เช่น *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* และแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliforms) การวิเคราะห์ทั้งหมดจะดำเนินการตามวิธีมาตรฐาน Bacteriological Analytical Manual (BAM) online

3.7 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของน้ำผึ้งชันโรงขนเงิน

3.7.1 การตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

การวิเคราะห์ค่า pH นำตัวอย่างน้ำผึ้งที่ได้รับอาหารเสริมและไม่ได้รับอาหารเสริมมาวัดค่าพีเอชโดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH Meter) ยี่ห้อ Mettler-Toledo ทำการวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ซ้ำ จดบันทึกทั้งค่า pH และอุณหภูมิ วิเคราะห์ตัวอย่างตามวิธีของ AOAC, (2000) 36

3.7.2 การตรวจวัดปริมาณของแข็งละลาย

วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลาย (OBrix) ของตัวอย่างน้ำผึ้งที่ได้รับอาหารเสริมและไม่ได้รับอาหารเสริมโดยใช้ เครื่อง Handheld Brix Refractometer รุ่น (RHB-32ATC) AOAC, (2000)

3.7.3 การตรวจวัดความชื้น

วิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยนำตัวอย่างน้ำผึ้งที่ได้รับอาหารเสริมและไม่ได้รับอาหารเสริมมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องชั่งแบบวิเคราะห์ค่าความชื้นยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น HC103 ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัมบนกระดาษกรองและนำเข้าเครื่องจากนั้นรอเครื่องอ่านค่า 10 นาที โดยจะอ่านออกมาเป็น %MC อ่านและบันทึกผลการทดลอง

3.7.4 การตรวจวัดค่าสีของน้ำผึ้ง

วิเคราะห์สีของน้ำผึ้งชันโรงขนเงินที่ได้รับอาหารเสริมและไม่ได้รับอาหารเสริมโดยเตรียมตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร และเจือจางด้วยน้ำกลั่น 500 ไมโครลิตร จากนั้น นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 635 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) และคำนวณค่า Pfund ดังสมการ (3-1) โดยดัดแปลงจาก (Bodor et al., 2021) ซึ่งรายละเอียดแสดงดังตารางที่ 3-1

$$Pfund = - 38.70 + 371.39 \times \text{Absorbance} \quad (3-1)$$

ตารางที่ 3-1 แสดงค่าช่วงสี และค่า Pfund ของน้ำฝิ่งชั้นโรง

สี	Pfund (mm)
Water white	< 9
Extra white	9 – 17
White	18 – 34
Extra light amber	35 – 50
Light amber	51 – 85
Amber	86 – 144
Dark amber	> 144

3.8 การศึกษาสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำฝิ่งชั้นโรงของชั้นโรงของเงิน (ดัดแปลงจาก Campos et al., 2021)

3.8.1 การเตรียมเชื้อ

เชื้อที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Candida albicans* ATCC10231 (*C.albicans*), *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* ATCC43300 (*MRSA*) และ *Escherichia coli* ATCC25922 (*E.coli*) ทำการปิเปตเชื้อ *C. albicans* ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในอาหารเหลวสำหรับเลี้ยงยีสต์ ได้แก่ อาหาร Yeast Malt Broth (YMA, ยี่ห้อ HiMediaTM, India) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และปิเปตเชื้อ *MRSA* และ *E.coli* ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในอาหารเหลวสำหรับเลี้ยงแบคทีเรีย ได้แก่ อาหาร Nutrient Broth Agar (NA, ยี่ห้อ HiMediaTM, India) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจะนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้งและใส่กลีเซอรอลร้อยละ 25 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ลงไปในตะกอน เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นจะนำจุลินทรีย์ที่ได้เจือจางด้วยน้ำกลีเซอรอลร้อยละ 0.85 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วให้ได้ความขุ่นของจุลินทรีย์เท่ากับสารละลายมาตรฐาน 0.5 McFarland ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10^8 CFU ต่อ มิลลิลิตร จากนั้นจะนำไปแช่ตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส ให้จุลินทรีย์มีอายุ 16 - 18 ชั่วโมง ก่อนนำมาวิเคราะห์

3.8.2 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่าง ปริมาณ 5 กรัม ใส่สารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและทำการวิเคราะห์

3.8.3 การทดสอบสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc Diffusion

นำจุลินทรีย์ *C. albicans*, *MRSA* และ *E.coli* ที่มีความขุ่น 0.5 McFarland อายุ 16 - 18 ชั่วโมง มาทำการวิเคราะห์ โดยปิเปตเชื้อ *C. albicans* ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนอาหารแข็งสำหรับเลี้ยงยีสต์ ได้แก่ YMA ทำการเกลี่ยให้ทั่วจานเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยไม้สวอป (Swab) ทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นวางแผ่น disc ลงบนจานอาหาร และหยดตัวอย่างลงไปบนแผ่น ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และปิเปตเชื้อ *MRSA* และ *E.coli* ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนอาหารแข็งสำหรับเลี้ยงแบคทีเรีย ได้แก่ MHA ทำการเกลี่ยให้ทั่วจานเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยไม้สวอป ทิ้งไว้ให้แห้ง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นวางแผ่น disc ลงบนจานอาหาร และหยดตัวอย่างลงไปบนแผ่น ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ เป็นเวลา 15 นาที นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาบ่มแล้วอ่านผล โดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส (Inhibition zone) ด้วยเครื่องมือวัดแบบดิจิตอล 0 - 150 มิลลิเมตร บันทึกผลและวิเคราะห์ผลการทดลองโดยทำการทดสอบ 3 ซ้ำ ซึ่งใช้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน (Ampicillin) ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมบวกสำหรับแบคทีเรีย และใช้ยาต้านเชื้อราคีโตโคนาโซล (Ketoconazole) ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมบวกสำหรับยีสต์

3.9 การศึกษาสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งชันโรงขนเงินและชันของชันโรงขนเงิน

3.9.1 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging (ดัดแปลงจาก Chen et al., 2007)

เตรียมสารละลาย DPPH radical ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 โดยปริมาตรเป็นตัวทำละลาย และเตรียมตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรง โดยเจือจางตัวอย่างให้มีความเข้มข้นเหมาะสมด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized Water; DI) จากนั้นปิเปตตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงใน 96 well plate และเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ลงไปในแต่ละความเข้มข้น เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดประมาณ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จากนั้นทำการคำนวณร้อยละการยับยั้ง ตามสมการที่ (3-2)

$$\% \text{ Inhibition} = ((A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}) \times 100 \quad (3-2)$$

โดยที่ A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH (Blank)

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดผสมกับสารละลาย DPPH

3.9.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS radical scavenging (ดัดแปลงจาก Saeio et al., 2011)

สารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ และโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) 2.45 มิลลิโมลาร์ ผสมกันในอัตราส่วน 2 : 3 แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางสารละลายตัวอย่างอัตราส่วน 1 : 20 ด้วยน้ำปราศจากไอออน ทำการวิเคราะห์โดยการเจือจางตัวอย่างให้มีความเข้มข้นเหมาะสมด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นปิเปตตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงใน 96 well plate และเติมสารละลาย ABTS ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนเครื่องไมโครเพลท ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร นำค่าที่คำนวณร้อยละการยับยั้ง ตามสมการที่ (3-2) ในหัวข้อ 3.9.1

3.10 การหาน้ำตาลทรีฮาโลส (Trehalulose) ด้วยเทคนิค MS Q-TOF (Fletcher et al., 2020)

3.10.1. วิธีเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรงตัวอย่างละ 2 กรัม น้ำ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และอะซิโตนไตรล์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร สกัดด้วยเครื่องเขย่าสารละลาย 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ปั่นเหวี่ยง 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นปิเปตสารละลายส่วนบนกรองด้วยตัวกรองเข็มฉีดยาแบบไม่ปลอดเชื้อ เนื้อ PTFE 0.2 ไมโครเมตร นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Resolution LC-MS/MS QTOF

3.10.2 UHPLC condition

- UHPLC: Agilent 1260 infinity II
- Column: Poroshell 120 HILIC-Z 2.1*100 มิลลิเมตร 2.7 ไมโครเมตร, Agilent, USA
- Column Temperature: 35 องศาเซลเซียส
- Flow rate: 0.2 มิลลิลิตรต่อนาที
- Injection volume: 2 ไมโครลิตร
- Mobile phases: A: 30% ACN/70% water (++0.1%NH₄OH)
B: 80% ACN/20% water (++0.1%NH₄OH)

ตารางที่ 3-2 Timetable

เวลา (นาที)	A (ร้อยละ)	B (ร้อยละ)
1	0.00	100.00
13	50.00	50.00
14	50.00	50.00

Post run 4 mins

3.10.3 MS Q-TOF condition

- MS Q-TOF Model G6546A
- Acquisition Mode : Targeted MSMS

MS Min Range (m/z)	100
MS Max Range (m/z)	750
MS Scan Rate (spectra/sec)	1.00
MS/MS Min Range (m/z)	100
MS/MS Max Range (m/z)	750
MS/MS Scan Rate (spectra/sec)	1.00
Max Time Between MS (sec)	Disabled
Decision Engine	Adv
Use Fixed Collision Energies	10, 20

ตารางที่ 3-3 Targeted Mass table

Start mass	Ret time (นาทีก)	Delta Ret time (นาทีก)	Isolation Width	Collision energy
341.1089	4.91	0.2	Medium	10
341.1089	4.91	0.2	Medium	20

- Instrument Parameters :

Gas Temp (°C) 320

Gas Flow (l/min) 8

Nebulizer (psig) 35

SheathGasTemp 350

SheathGasFlow 11

- Scan Seg # Ion Polarity : Negative

- Scan Segments :

VCap 3500

Voltage (V) 1000

Fragmentor 175

Skimmer1 65

3.11 การวิเคราะห์พืชอาหารในน้ำผึ้งชันโรงขนเงินด้วยลักษณะทางเรณูวิทยา (ดัดแปลงจาก Thakodee et al., 2018)

นำตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรง ปริมาณ 0.31 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 0.62 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นแยกส่วนใส่ออก นำตะกอนที่ได้เติมสารละลายอะซิโตนไฮดรอกซี ปริมาตร 0.16 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วยกรดอะซิติก (CH_3COOH) เข้มข้นร้อยละ 98 และสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (H_2SO_4) อัตราส่วน 9 : 1 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสทิ้ง เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 0.62 มิลลิลิตร เทส่วนใสทิ้ง (ทำซ้ำ 2 รอบ) เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 0.62 มิลลิลิตร เทส่วนใสทิ้ง (ทำซ้ำ 2 รอบ) เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 0.16 มิลลิลิตร จากนั้นทิ้งไว้ 30 นาที นำตะกอนของเรณูที่ได้มาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลของเกสรดอกไม้จากงานวิจัยที่ได้ดำเนินการก่อนหน้านี้หรือเก็บดอกไม้ในแหล่งเพาะเลี้ยงชันโรงต่าง ๆ โดยจะทำการนับเกสรหรือละอองเรณูจากตัวอย่างน้ำผึ้ง

อย่างน้อย 300 เมล็ด และแสดงผลในค่าของร้อยละของละอองเรณูพืชชนิดนั้น ๆ ในตัวอย่างน้ำผึ้ง และนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับเกณฑ์ในการจัดจำแนกละอองเรณู (Louveau et al., 1978) ดังนี้ น้ำผึ้งที่ผลิตจากดอกไม้หลักชนิดเดียว (Monofloral honey) จะต้องพบละอองเรณูของพืชอาหาร ชนิดนั้นมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 45 จัดเป็นเกสรของพืชเด่น (Predominant pollen type; PP) น้ำผึ้งที่ผลิตจากดอกไม้หลักสองชนิด (Bifloral honey) จะต้องพบละอองเรณูของพืชอาหารสองชนิด นั้นชนิดละร้อยละ 15 - 45 จัดเป็นเกสรเด่นลำดับชนิดที่สอง (Accessory pollen type; AP) และ น้ำผึ้งที่ผลิตจากดอกไม้หลายชนิด (Multifloral honey) จะต้องพบละอองเรณูของพืชอาหารสาม ชนิดขึ้นไปนั้นชนิดละร้อยละ 3 - 15 จัดเป็นเกสรเด่นชนิดรอง (Important minor pollen type; IMP) หรือน้อยกว่า 3 (Minor pollen type; MP) โดยชนิดของพืชที่เป็นพืชเด่นจะแสดงถึงแหล่ง น้ำหวานหลักของชันโรง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการตรวจสอบย้อนกลับหากเจอสารปนเปื้อนหรือสาร ตกค้างในน้ำผึ้งชันโรงตัวอย่างในการประเมินความเสี่ยงในกระบวนการผลิตน้ำผึ้งชันโรง



บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การศึกษาผลของอาหารเสริมให้เหมาะสมกับชั้นโรงขนเงิน

จากงานวิจัยข้างต้นอาหารสำหรับชั้นโรงขนเงินจะมีส่วนประกอบหลักคือ โปรตีนจากเกสรดอกไม้ แต่เนื่องจากเกสรดอกไม้มีราคาที่สูง (500 บาทต่อกิโลกรัม) จึงมีการนำกากถั่วเหลืองมาใช้ร่วมกับเกสรดอกไม้เพื่อลดต้นทุน นอกจากนี้ยังมีการเพิ่มชนิดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์เข้าไปในส่วนผสมและมีการปรับส่วนผสมบางชนิด เช่น วิตามิน แร่ธาตุ และกรดอะมิโนรวม และได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงขนเงินในระดับห้องปฏิบัติการร่วมกับสารละลายซูโครสร้อยละ 50 โดยอาหารในแต่ละสูตรจะเป็นตัวแทน ดังนี้

- ชุดควบคุม เป็นสารละลายน้ำตาลซูโครสร้อยละ 50 เพียงอย่างเดียว ซึ่งใช้เป็นตัวแทนควบคุม
- อาหารเสริมสูตร A1 เป็นส่วนผสมของอาหารเสริมสำหรับแมลงในกลุ่มผึ้ง โดยสามารถหาซื้อได้ตามท้องตลาดหรือผลิตขึ้นเอง ร่วมกับ สารละลายน้ำตาลซูโครสร้อยละ 50
- อาหารเสริมสูตร A2 เป็นอาหารเสริมที่มีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่พบในถ้วยเกสรหมักของชั้นโรงร่วมกับ สารละลายน้ำตาลซูโครสร้อยละ 50
- อาหารเสริมสูตร A3 เป็นอาหารเสริมที่มีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่พบในถ้วยเกสรหมักของชั้นโรงเช่นเดียวกับ อาหารเสริมสูตร A2 แต่เปลี่ยนกากถั่วเหลืองเป็นโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง (soy bean hydrolysate) ร่วมกับ สารละลายน้ำตาลซูโครสร้อยละ 50

จากการปรับปรุงสูตรอาหารพบว่า ต้นทุนของอาหารสูตรอาหารเสริมสูตร A3 คือ อาหารเสริมที่มีราคาสูงที่สุด คือ กิโลกรัมละ 250.70 บาท รองลงมา คือ อาหารสูตร A2 และ A1 ซึ่งมีราคาต้นทุน กิโลกรัมละ 195.20 และ 169.10 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยองค์ประกอบและราคาวัตถุดิบของอาหารสูตรต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 4-1

ตารางที่ 4-1 องค์ประกอบต่าง ๆ และราคาวัตถุดิบของสูตรอาหารสำหรับชั้นโรงخنเงินที่ใช้ในการวิจัย

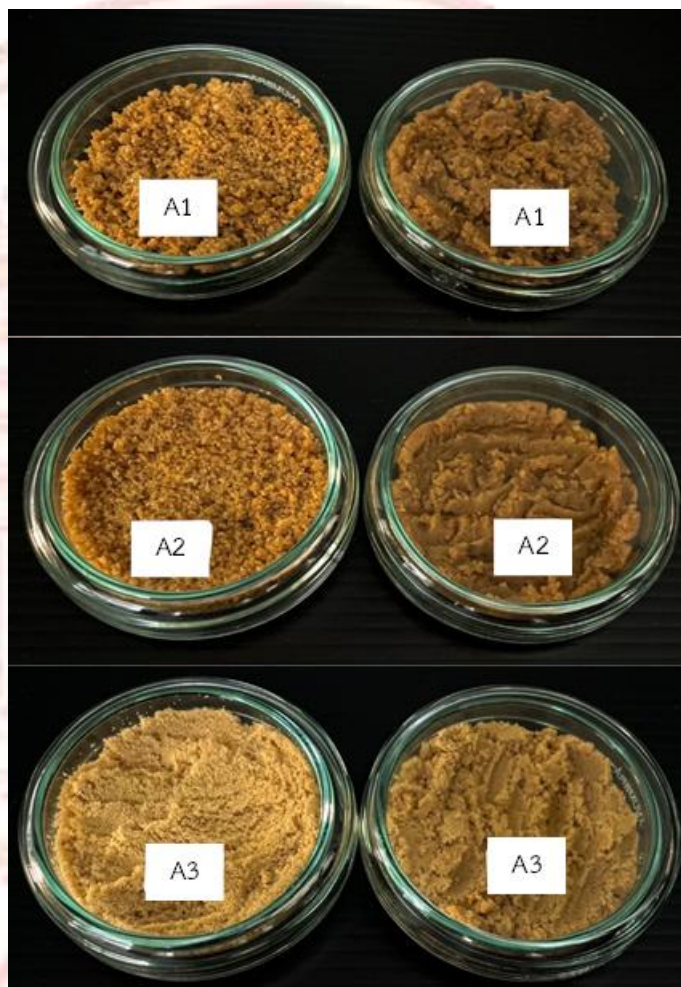
องค์ประกอบ (กรัม ใน 100 กรัม)	ชุดควบคุม	A1	A2	A3
เกสรผึ้ง (500 บาทต่อกิโลกรัม)		30	30	30
กากถั่วเหลือง (35 บาทต่อกิโลกรัม)		30	30	
โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง (220 บาทต่อกิโลกรัม)				30
น้ำตาลซูโครส (24 บาทต่อกิโลกรัม)	50	15	15	15
น้ำสะอาด (5 บาทต่อลิตร)	50	22	22	22
ยีสต์สกัดเกรดอาหารสัตว์ (130 บาทต่อกิโลกรัม)		3		
จุลินทรีย์โพรไบโอติก* <i>Starmerella</i> sp. CMU Y-15 <i>Zygosaccharomyces</i> sp. CMU <i>Lactobacillus johnsonii</i> TSU-11			1 1 1	1 1 1
ราคาวัตถุดิบ (บาทต่อกิโลกรัม)	14.50	169.10	195.20	250.70

* จุลินทรีย์โพรไบโอติก หมายถึง กลุ่มของจุลินทรีย์ที่ช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ และมีรายงานการพบในรังของชันโรงที่สมบูรณ์ ซึ่งประกอบด้วย

1. แบคทีเรีย *Lactobacillus johnsonii* TSU-11 ช่วยในปรับสภาพเกสรให้มีความเป็นกรด และช่วยรักษาสมดุลให้กับระบบทางเดินอาหารของชันโรง ซึ่งแยกได้จากเกสรของชันโรงخنเงิน
2. ยีสต์ *Starmerella* sp. CMU-Y15 สร้างสารลดแรงตึงผิว และช่วยย่อยเกสรผึ้งให้อยู่ในรูปที่ชันโรงสามารถย่อยและดูดซึมสารอาหารได้ง่าย
3. ยีสต์ *Zygosaccharomyces* sp. ทำหน้าที่สร้างสาร Ergosterol ซึ่งทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญและการเข้าดักแด้ของตัวอ่อน

เตรียมอาหารเสริมสำหรับชันโรงโดยผสมส่วนประกอบของอาหารเสริมดังแสดงใน ตารางที่ 4-1 โดยส่วนผสมแห้งทุกชนิดได้ผ่านการลดขนาดของอนุภาคเล็กกว่า 0.50 มิลลิเมตร จากนั้นผสมแต่ละส่วนให้เข้ากันและเติมจุลินทรีย์ที่มีชีวิต คือ ยีสต์และแบคทีเรียจำนวน 3 ชนิด ซึ่งคัดแยกได้จากชันโรงخنเงิน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ก่อนนำไปใช้งาน (ภาพที่4-1) เพื่อให้จุลินทรีย์

เจริญและช่วยสลายโปรตีนในถั่วเหลืองและเกสรดอกไม้ให้ชั้นโรงสามารถนำไปใช้ได้ง่ายขึ้น ตลอดจนสร้างสารสำคัญต่าง ๆ ที่มีความจำเป็นต่อการเจริญของชั้นโรงขนเงิน วัตถุดิบที่เป็นของแข็งจะนำมาฆ่าเชื้อโดยใช้ UV และของเหลว ยกเว้นน้ำผึ้งจะนำไปกรองผ่านกระดาษกรองที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรูพรุน 0.20 ไมครอน ก่อนนำมาใช้งาน



ภาพที่ 4-1 ลักษณะทางกายภาพของอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงขนเงินสูตรต่าง ๆ ในวันที่ 0 ได้แก่ A1 (ซ้าย) A2 (ซ้าย) และ A3 (ซ้าย) และหลังการหมักในวันที่ 7 ได้แก่ A1 (ขวา) A2 (ขวา) และ A3 (ขวา)

ภายหลังการบ่มอาหารเสริมชั้นโรงขนเงินสูตร A1, A2 และ A3 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน พบว่า อาหารเสริมมีลักษณะเริ่มเป็นเนื้อเดียวกัน แห้ง และมีสีของอาหารเข้มขึ้น (แสดงดังภาพที่ 4-1) นำอาหารเสริมไปทดสอบอายุของผลิตภัณฑ์โดยนำอาหารเสริมสูตร A2 ที่มีการเติมจุลินทรีย์ใส่ถุงฟอยด์ปิดสนิทจากนั้นนำไปเก็บตามอุณหภูมิต่าง ๆ ได้แก่ 4, 30 และ 45

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบว่า เมื่ออุณหภูมิที่เก็บอาหารเพิ่มมากขึ้น สีของอาหารเข้มขึ้น ดังภาพที่ 4-2

ตารางที่ 4-2 ลักษณะทางกายภาพของอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงخنเงินสูตร A2 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

อุณหภูมิ	7 วัน	14 วัน	21 วัน	30 วัน
4 องศาเซลเซียส				
30 องศาเซลเซียส				
45 องศาเซลเซียส				

ผลการศึกษาคคุณค่าทางโภชนาการของอาหารเสริมสำหรับชั้นโรง โดยนำตัวอย่างอาหารเสริมสูตร A1, A2 และ A3 ที่พร้อมใช้งาน อย่างละ 300 กรัม ส่งวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร ณ บริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด จากผลการทดสอบพบว่า ปริมาณโปรตีน, ปริมาณคาร์โบไฮเดรต และ ปริมาณไขมัน ของอาหารเสริมสูตร A1 เท่ากับร้อยละ 22.27, 32.31 และ 3.24 ตามลำดับ ในอาหารสูตร A2 เท่ากับร้อยละ 41.22, 14.06 และ 3.23 ตามลำดับ และในอาหารเสริมสูตร A3 เท่ากับร้อยละ 48.71, 13.90 และ 2.69 ตามลำดับแสดงดังตารางที่ 4-2

ตารางที่ 4-3 แสดงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงخنเงิน

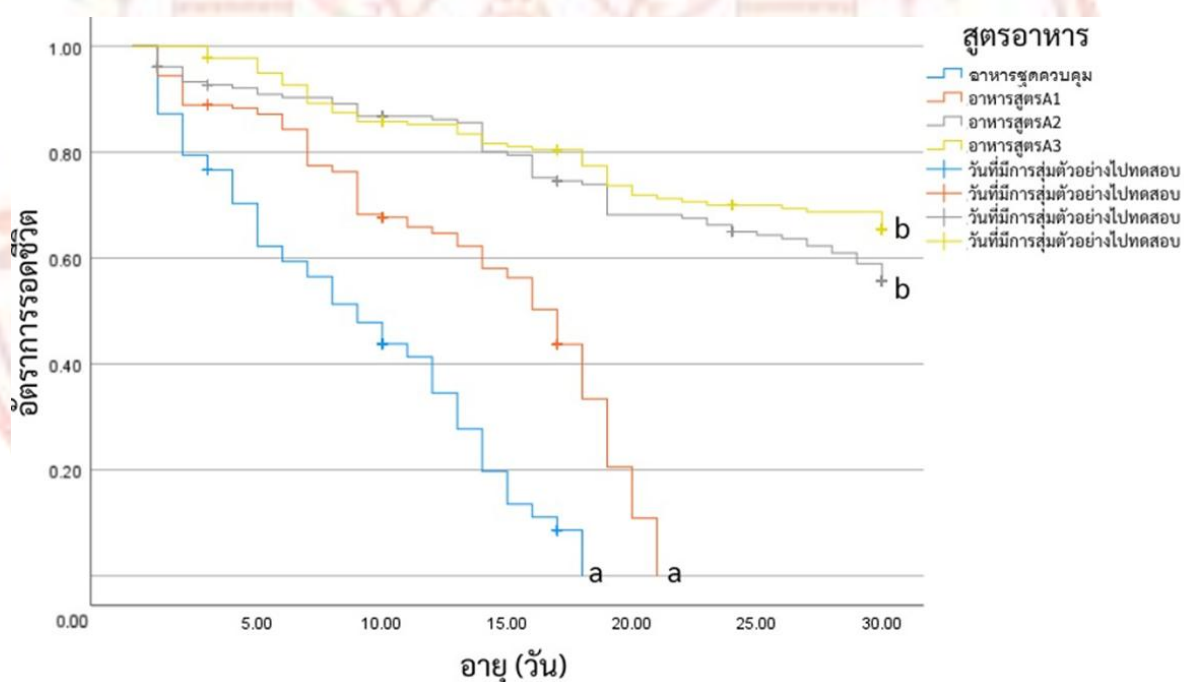
รายการทดสอบ	สูตรอาหาร		
	A1	A2	A3
คาร์โบไฮเดรต (กรัมต่อ 100 กรัม)	32.31 ^c	14.06 ^b	13.90 ^a
โปรตีน (กรัมต่อ 100 กรัม)	25.27 ^a	41.22 ^b	48.71 ^c
ไขมัน (กรัมต่อ 100 กรัม)	3.24 ^b	3.23 ^b	2.69 ^a
ความชื้น (กรัมต่อ 100 กรัม)	37.11 ^b	38.25 ^c	33.82 ^a
เถ้า (กรัมต่อ 100 กรัม)	3.07 ^a	3.24 ^b	3.88 ^c
พลังงาน (กิโลแคลอรีต่อ 100กรัม)	250.48 ^b	250.19 ^a	262.65 ^c

4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงخنเงินในห้องปฏิบัติการ

4.2.1 ผลการศึกษาอัตราการรอดชีวิตของชั้นโรงخنเงิน

จากผลการศึกษาอัตราการรอดชีวิตของชั้นโรงخنเงินที่เลี้ยงด้วยชุดควบคุม,อาหารเสริมสูตร A1, A2 และ A3 ร่วมกับสารละลายซูโครสร้อยละ 50 โดยมีผลต่อปริมาตร แบบ *ad libitum* และเปลี่ยนอาหารกับสารละลายน้ำตาลซูโครสใหม่ทุก 3 วัน ผลการศึกษาพบว่า ชั้นโรงخنเงินที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม มีอัตราการรอดชีวิตร้อยละ 0.00 ± 0.00 ตัว ตายทั้งหมดในวันที่ 18 ของการทดลอง อาหารเสริมสูตร A1 มีอัตราการรอดชีวิตร้อยละ 0.00 ± 0.00 ตัว ตายทั้งหมดในวันที่ 21 ของการทดลอง ซึ่งแตกต่างจากอาหารเสริมสูตร A2 และ A3 มีอัตราการรอดชีวิตร้อยละ 56.67 ± 0.58 และ 67.78 ± 1.53 ตัว ตามลำดับ

จากผลการทดลองจะเห็นว่า อาหารเสริมสำหรับชั้นโรงخنเงินสูตร A2 และ A3 สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตให้กับชั้นโรงخنเงินในระดับห้องปฏิบัติการได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อัตราการรอดชีวิตของชั้นโรงخنเงินที่ให้อาหารเสริมสูตร A2 และ A3 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารชุดควบคุมและอาหารเสริมสูตร A1 แสดงดังภาพที่ 4-2 อาหารเสริมสูตร A2 และ A3 มีการเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีชีวิตก่อนการหมัก ซึ่งช่วยในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และกระตุ้นการย่อยสลายโปรตีนจากถั่วเหลืองและเกสรดอกไม้ ทำให้ชั้นโรงخنเงินนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่ายขึ้น อีกทั้งยังช่วยสร้างสารสำคัญที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของชั้นโรงخنเงิน ในทางกลับกัน อาหารเสริมสูตร A1 แม้จะมีการเติมจุลินทรีย์ในรูปของยีสต์เกรดอาหารสัตว์ แต่เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่มีชีวิต จึงไม่มีบทบาทในการย่อยสลายโปรตีนจากถั่วเหลืองและเกสรดอกไม้ ส่งผลให้ชั้นโรงขนนำไปใช้ได้ยากกว่าอาหารเสริมสูตร A2 และ A3



*ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ที่กำกับค่าของข้อมูลตามแนวตั้งที่แตกต่างกัน และตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่กำกับค่าของข้อมูลตามแนวนอนที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

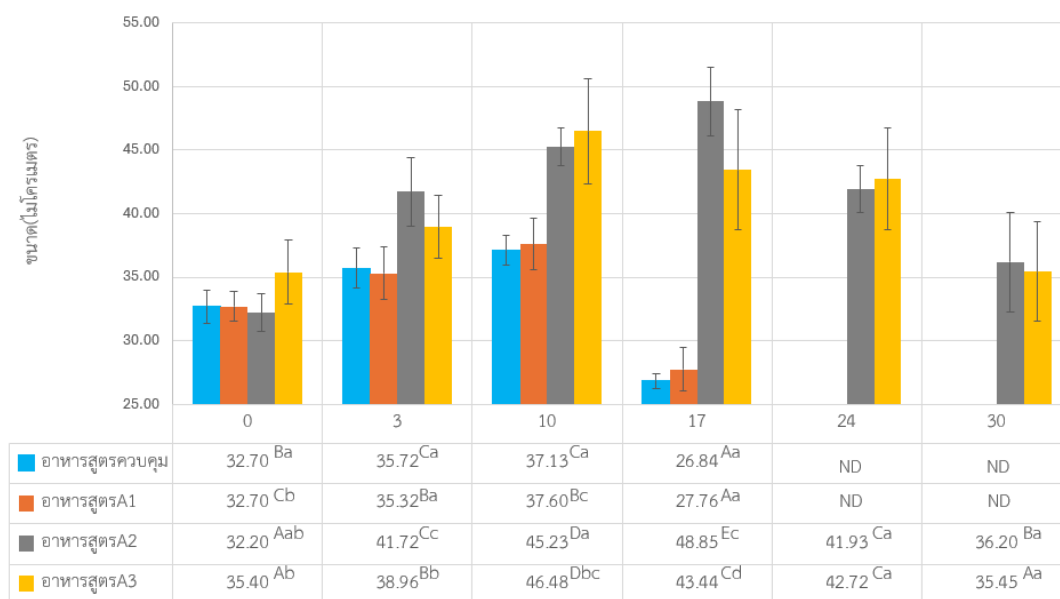
ภาพที่ 4-2 แสดงอัตราการรอดชีวิตของชั้นโรงخنเงินตัวเต็มวัยที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมชนิดต่าง ๆ

เป็นระยะเวลา 30 วัน ภายใต้สภาวะควบคุมในห้องปฏิบัติการ

4.2.2 ผลการศึกษาอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงخنเงินต่อการพัฒนาของต่อมไฮโปฟาริงจ์

จากผลการทดลองผลของอาหารเสริมชั้นโรงخنเงินต่อการพัฒนาของขนาด HPGs ของชั้นโรงخنเงินที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม, อาหารเสริมสูตร A1, A2 และ A3 ร่วมกับสารละลายซูโครสร้อยละ 50 โดยมวลต่อปริมาตร ผลการศึกษาพบว่า ในวันที่ 0 ขนาดของ acini เฉลี่ยของชั้นโรงมีขนาดใกล้เคียงกันโดยขนาดเฉลี่ยของ acini ของชั้นโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม, อาหารเสริมสูตร A1, A2 และ A3 มีขนาดเท่ากับ 32.70 ± 1.30 , 35.70 ± 3.20 , 34.20 ± 5.50 และ 35.40 ± 2.50 ไมโครเมตร ตามลำดับ ในวันที่ 3 ขนาดเฉลี่ยของ acini ของชั้นโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม, อาหารเสริมสูตร A1, A2 และ A3 มีขนาดเท่ากับ 35.72 ± 2.60 , 35.32 ± 3.10 , 41.72 ± 2.70 และ 38.96 ± 2.50 ไมโครเมตร ตามลำดับ ในวันที่ 10 ขนาดเฉลี่ยของ acini ของชั้นโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม, อาหารเสริมสูตร A1, A2 และ A3 มีขนาดเท่ากับ 37.13 ± 1.20 , 37.60 ± 3.00 , 45.23 ± 1.50 และ 46.48 ± 4.10 ไมโครเมตร ตามลำดับ ในวันที่ 17 ขนาดเฉลี่ยของ acini ของชั้นโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม, อาหารเสริมสูตร A1, A2 และ A3 มีขนาดเท่ากับ 26.84 ± 1.60 , 27.76 ± 3.70 , 48.85 ± 4.70 และ 43.44 ± 4.70 ไมโครเมตร ตามลำดับ ในวันที่ 24 ซึ่งมีเพียงชั้นโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสูตร A2 และ A3 ที่ยังมีชีวิตรอด มีขนาดเฉลี่ยของ acini เท่ากับ 41.93 ± 1.80 และ 42.72 ± 4.00 ไมโครเมตร ตามลำดับ และในวันที่ 30 มีขนาดเฉลี่ยของ acini ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสูตร A2 และ A3 มีขนาด 36.20 ± 3.90 และ 35.45 ± 3.90 ไมโครเมตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4-3 และภาพที่ 4-3

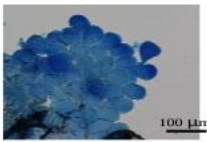
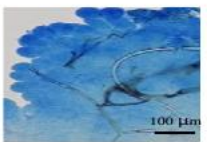
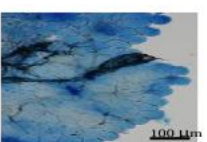
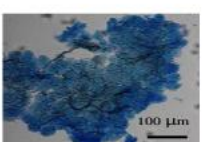
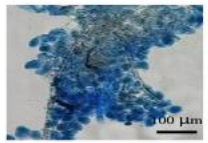
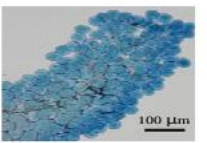
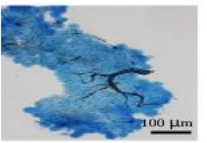
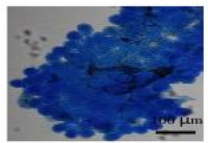
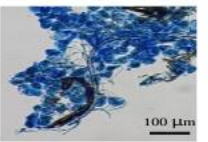
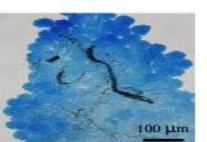
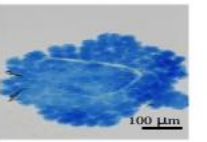
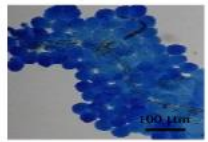
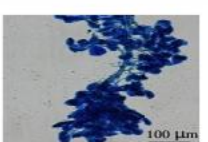
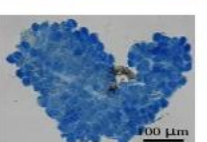
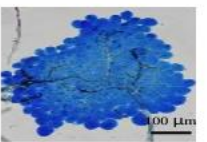
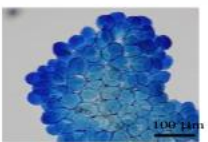
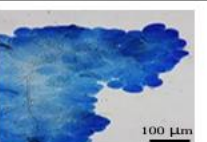
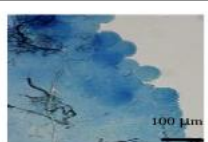
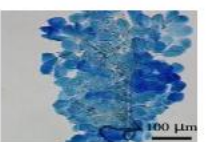
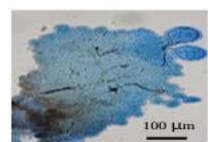
จากผลการทดลองสรุปได้ว่า อาหารเสริมสูตร A2 และ A3 ส่งผลให้ขนาดของ acini มีขนาดใหญ่และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญสถิติ ในวันที่ 30 โดยมีค่า 36.20 ± 3.90 และ 35.45 ± 3.90 ไมโครเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือ อาหารเสริมสูตร A1 และอาหารชุดควบคุม มีขนาดของ HPGs เล็กลงตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบขนาดของ acini ของชั้นโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมระหว่างอาหารเสริมสูตร A2 และอาหารชุดควบคุมในวันที่ 17 พบว่า มีความแตกต่างของขนาด acini ถึง 1.82 เท่า แสดงให้เห็นว่า อาหารเสริมส่งผลต่อขนาดของ HPGs ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Vanessa et.al., 2019) ที่พบว่า ขนาดของ HPGs แปรผันตามคุณภาพของอาหาร ทำให้ขนาดของ HPGs สามารถบ่งบอกถึงคุณภาพของอาหารได้แสดงว่า อาหารเสริมสูตร A2 และ A3 ในงานวิจัยนี้มีปริมาณโปรตีนสูง และมีความสามารถในการพัฒนาและเพิ่มขนาดของ HPGs ของชั้นโรงخنเงินได้ จึงช่วยให้ชั้นโรงخنเงินมีอัตราการรอดชีวิตที่สูงขึ้น



*ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ที่กำกับค่าของข้อมูลตามแนวตั้ง และตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่กำกับค่าของข้อมูลตามแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$)

ภาพที่ 4-3 ขนาด acini เฉลี่ยของชั้นโรจนเงินที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมชนิดต่าง ๆ

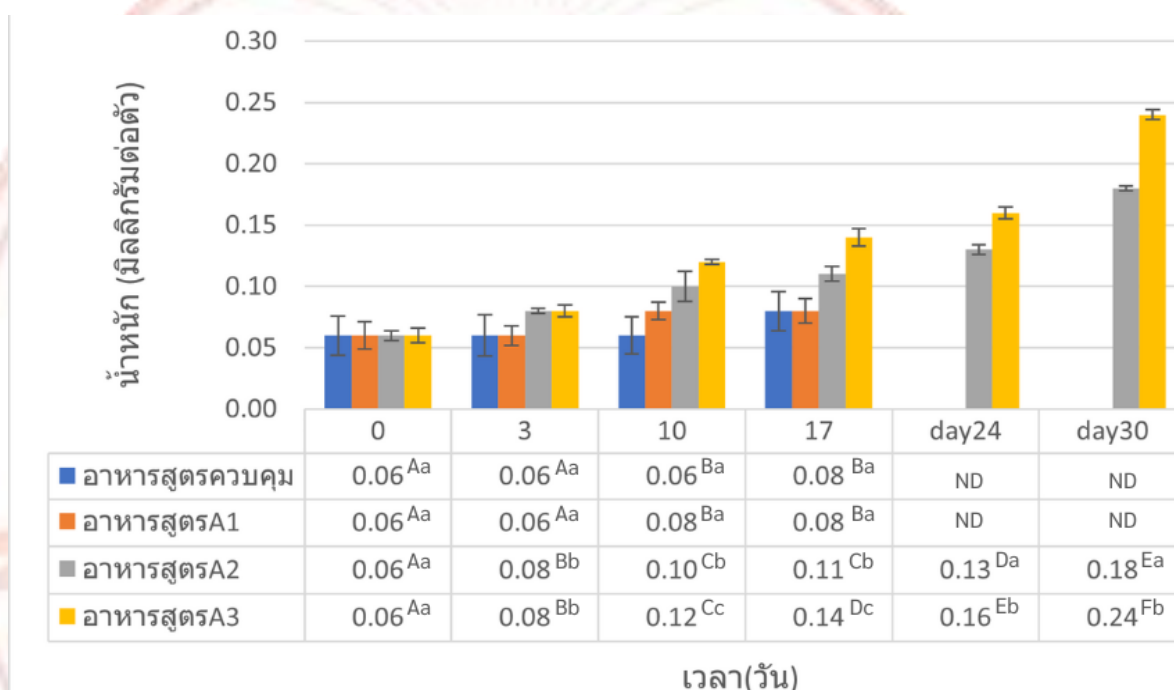
ตารางที่ 4-4 ภาพถ่ายของ HPGs ของชั้นโรงขนเงินที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมชนิดต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า

วันที่	อาหารเสริมแต่ละสูตร			
	ชุดควบคุม	A1	A2	A3
0				
3				
10				
17				
24				
30				

4.2.3 ผลการศึกษาปริมาณไขมันในช่องท้องของชั้นโรงขนเงิน

จากผลการทดสอบปริมาณไขมันของชั้นโรงขนเงินที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม, อาหารเสริมสูตร A1, A2 และ A3 ร่วมกับสารละลายซูโครสร้อยละ 50 ผลการศึกษาพบว่า ในวันที่ 0 ชั้นโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม, อาหารเสริมสูตร A1, A2 และ A3 มีปริมาณไขมันในร่างกายเฉลี่ย 0.06 ± 0.02 , 0.06 ± 0.01 , 0.06 ± 0.00 , และ 0.06 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ ในวันที่ 3 ชั้นโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม, อาหารเสริมสูตร A1, A2 และ A3 มีปริมาณไขมันในร่างกายเฉลี่ย 0.06 ± 0.02 , 0.06 ± 0.01 , 0.08 ± 0.00 และ 0.08 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ ในวันที่ 10 ชั้นโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม, อาหารเสริมสูตร A1, A2 และ A3 มีปริมาณไขมันในร่างกายเฉลี่ย 0.06 ± 0.02 , 0.08 ± 0.01 , 0.10 ± 0.01 และ 0.12 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ ในวันที่ 17 ชั้นโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุม, อาหารเสริม

สูตร A1, A2 และ A3 มีปริมาณไขมันในร่างกายเฉลี่ย 0.08 ± 0.02 , 0.08 ± 0.01 , 0.11 ± 0.01 และ 0.14 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ ในวันที่ 24 ชันโรงขเงินที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร A2 และ A3 มีปริมาณไขมันในร่างกายเฉลี่ย 0.13 ± 0.00 และ 0.16 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ วันที่ 30 ชันโรงขเงินที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร A2 และ A3 มีปริมาณไขมันในร่างกายเฉลี่ย 0.18 ± 0.00 และ 0.24 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 4-5 จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า การให้อาหารเสริมสูตร A3 ส่งผลให้ชันโรงมีปริมาณไขมันในร่างกายเพิ่มขึ้นสูงที่สุด



*ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์ใหญ่ที่กำกับค่าของข้อมูลตามแนวดังที่แตกต่างกัน และตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่กำกับค่าของข้อมูลตามแนวนอนที่แตกต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

ภาพที่ 4-4 ปริมาณไขมันในช่องท้องเฉลี่ยของชันโรงขเงินที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมชนิดต่างๆ (มิลลิกรัมต่อตัว)

จากผลการทดลองพบว่า อาหารเสริมสูตร A2 และ A3 ส่งผลให้ปริมาณไขมันในร่างกายของชันโรงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยในวันที่ 30 ปริมาณไขมันของชันโรงที่ได้รับอาหารเสริมสูตร A2 และ A3 เท่ากับ 0.18 ± 0.00 และ 0.24 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ ขณะที่ชันโรงที่ได้รับอาหารเสริมสูตร A1 และอาหารชุดควบคุม มีปริมาณไขมัน 0.08 ± 0.02 และ 0.08 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ

ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า อาหารเสริมมีผลต่อปริมาณไขมันในช่องท้องของชันโรง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Vanessa et al., 2019) ที่ระบุว่าปริมาณไขมันในช่องท้องแปรผันตามคุณภาพของอาหาร และสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดคุณภาพอาหารได้ ปริมาณไขมันในช่องท้องของชันโรง

ถือเป็นแหล่งพลังงานสำรอง หากได้รับอาหารที่เพียงพอ ปริมาณไขมันในร่างกายจะเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ไขมันในช่องท้องยังมีบทบาทสำคัญในการกักเก็บสารพิษ เช่น ยาฆ่าแมลง ซึ่งช่วยให้ชั้นไขมันสามารถทนต่อสารพิษได้

4.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของอาหารเสริมในระดับภาคสนาม

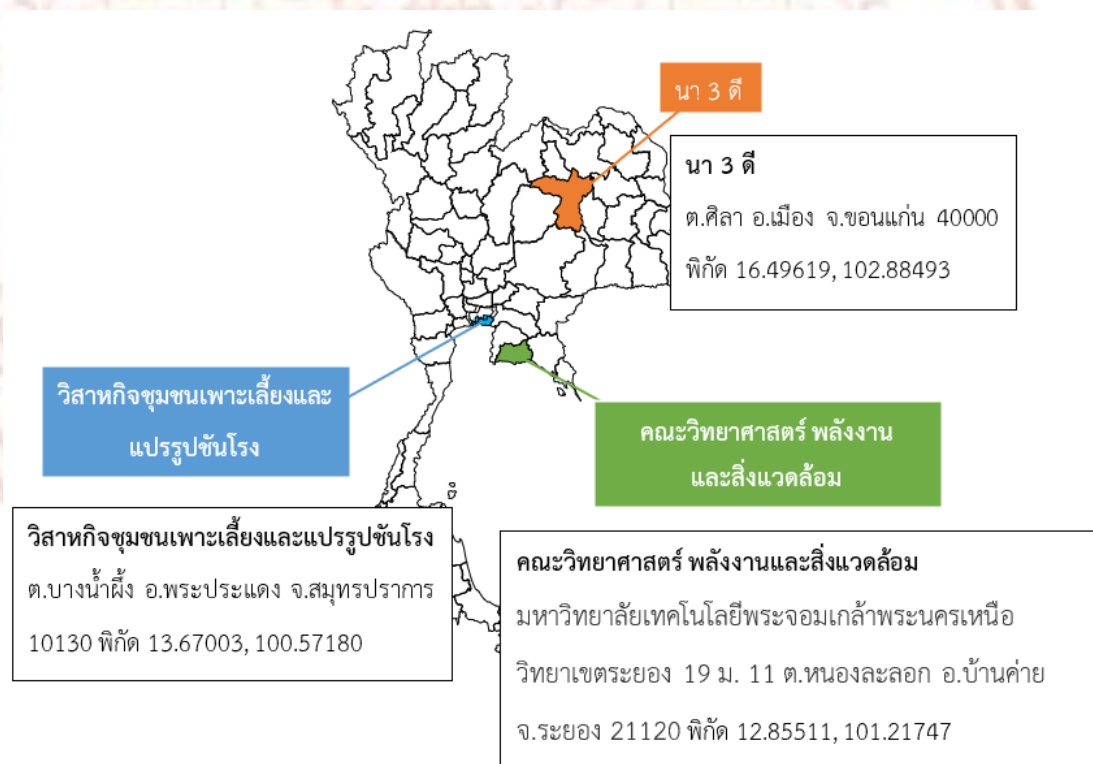
จากผลการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า อาหารเสริมสำหรับชั้นโรงสูตร A2 และ A3 สามารถเพิ่มอายุขัย ขนาดของ HPGs ปริมาณไขมันในร่างกาย และไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ผู้วิจัยจึงต้องคำนึงในปัจจัยอื่น ในด้านของราคาของอาหารเสริม อาหารเสริมสำหรับชั้นโรงสูตร A2 และ A3 มีราคาอยู่ที่ 195.20 และ 250.70 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งอาหารเสริมสูตร A2 มีราคาถูกกว่าอาหารเสริมสูตร A3 ที่ร้อยละ 22 อาหารเสริมสูตร A2 จึงมีความเหมาะสมมากกว่าอาหารเสริมสูตร A3

ดังนั้นในการทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงขนเงินในระดับภาคสนาม ผู้วิจัยจึงเลือกใช้อาหารเสริมสูตร A2 ในการทดสอบในระดับภาคสนาม ในพื้นที่จังหวัดระยอง จังหวัดสมุทรปราการและจังหวัดขอนแก่น



ภาพที่ 4-5 อาหารเสริมสำหรับชั้นโรงขนเงินสูตร A2 ที่แบ่งใส่ถุงฟอยด์ขนาดเล็กที่ปิดสนิท
ถุงละ 10 กรัม เพื่อให้สะดวกต่อเกษตรกรในการนำไปใช้งาน

ผู้วิจัยได้คัดเลือกสูตรอาหารเสริม A2 เนื่องจากเป็นอาหารเสริมที่เหมาะสมที่สุดจากการทดสอบชันโรง
 ขนเงินในห้องปฏิบัติการมาเลี้ยงชันโรงขนเงินในระดับภาคสนาม โดยจะทดสอบกับชันโรงในพื้นที่
 จังหวัดระยอง ขอนแก่นและสมุทรปราการ โดยทำการคัดเลือกรังชันโรงขนเงินที่สมบูรณ์ซึ่งจะ
 ประกอบด้วยชันโรงนางพญา (Queen) ไข่อ่อน (Young egg) ไข่แก่ (Mature egg) ถ้วยเกสร (Pollen
 pot) และถ้วยน้ำหวาน (Honey pot) จำนวน 10 รัง สำหรับรังที่ได้รับอาหารเสริม และ จำนวน 10
 รัง สำหรับรังที่ไม่ได้รับอาหารเสริม (ชุดควบคุม) รวม 20 รังต่อพื้นที่ทดลอง จากนั้นทำการบันทึกรหัส
 ของรังทดสอบในแต่ละรัง และถ่ายรูปองค์ประกอบของแต่ละรังเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ
 อาหารเสริมโดยแทนที่รหัสรังดังนี้ พื้นที่จังหวัดระยอง (RY), พื้นที่จังหวัดขอนแก่น (KK) และ พื้นที่
 จังหวัดสมุทรปราการ (SP) นอกจากนี้ C แทนตัวแปรชุดควบคุม (ไม่ได้รับอาหารเสริม) T แทนอาหาร
 เสริมสูตร A2



ภาพที่ 4-6 พื้นที่ทดลองภาคสนาม

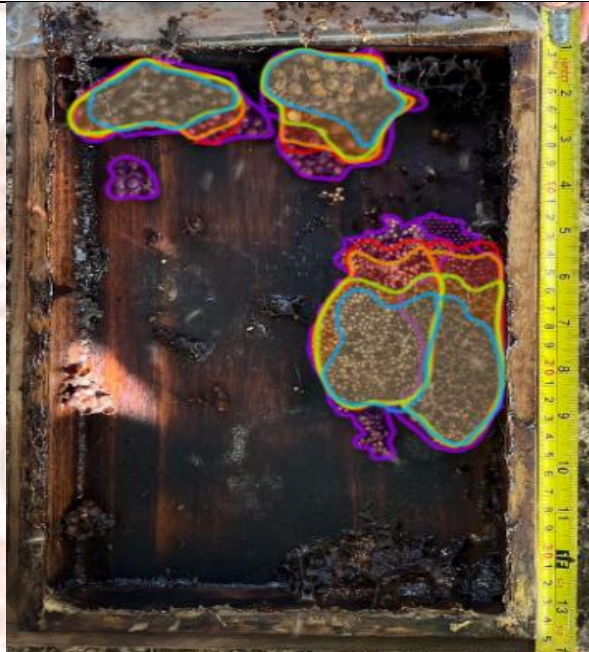
จากผลการทดสอบการเลี้ยงชันโรงขนเงินในระดับภาคสนามด้วยสูตรอาหาร A2 เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า เมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 28 วัน ในพื้นที่จังหวัดระยองพบว่า รังชันโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสูตร A2 (RY-T) มีร้อยละของไข่อ่อน ไข่แก่ ถ้วยเกสร และถ้วยน้ำหวาน เพิ่มขึ้น 71.13 ± 7.65 , 104.69 ± 27.91 , 81.54 ± 22.20 และ 57.83 ± 12.75 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนรังชันโรงที่ไม่ได้ให้อาหารเสริมสูตร A2 (RY-C) ร้อยละปริมาณของกลุ่มไข่อ่อน กลุ่มไข่แก่ ถ้วยเกสร และถ้วยน้ำหวาน เพิ่มขึ้น 17.74 ± 0.57 , 22.94 ± 3.99 , 27.83 ± 9.85 และ 22.09 ± 4.84 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ในวันที่ 28 พบว่า มีรังชันโรงที่มีปริมาณของไข่อ่อนของชันโรงเพิ่มขึ้นนับจากวันที่ 0 จากผลข้างต้นจะเห็นว่ารังชันโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสูตร A2 มีปริมาณไข่อ่อนเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 71.13 ± 7.65 ดังแสดงในตารางที่ 4-6 ในพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการพบว่า รังชันโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสูตร A2 มีร้อยละของไข่อ่อน ไข่แก่ ถ้วยเกสร และถ้วยน้ำหวาน เพิ่มขึ้น 69.72 ± 10.39 , 82.65 ± 14.07 , 50.48 ± 15.99 และ 51.90 ± 4.22 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนรังชันโรงที่ไม่ได้ให้อาหารเสริมสูตร A2 ร้อยละของไข่อ่อน ไข่แก่ ถ้วยเกสร และถ้วยน้ำหวาน เพิ่มขึ้น 41.99 ± 11.24 , 44.94 ± 4.77 , 28.69 ± 4.90 และ 28.51 ± 7.24 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ในวันที่ 28 พบว่า มีรังชันโรงที่มีปริมาณของไข่อ่อนของชันโรงเพิ่มขึ้นนับจากวันที่ 0 จะเห็นว่า รังชันโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสูตร A2 มีปริมาณไข่อ่อนเพิ่มถึงร้อยละ 69.72 ตารางเซนติเมตร และมีรังชันโรงล่มในกลุ่มของรังชันโรงที่ไม่ได้ให้อาหารเสริมสูตร A2 คิดเป็นร้อยละ 30

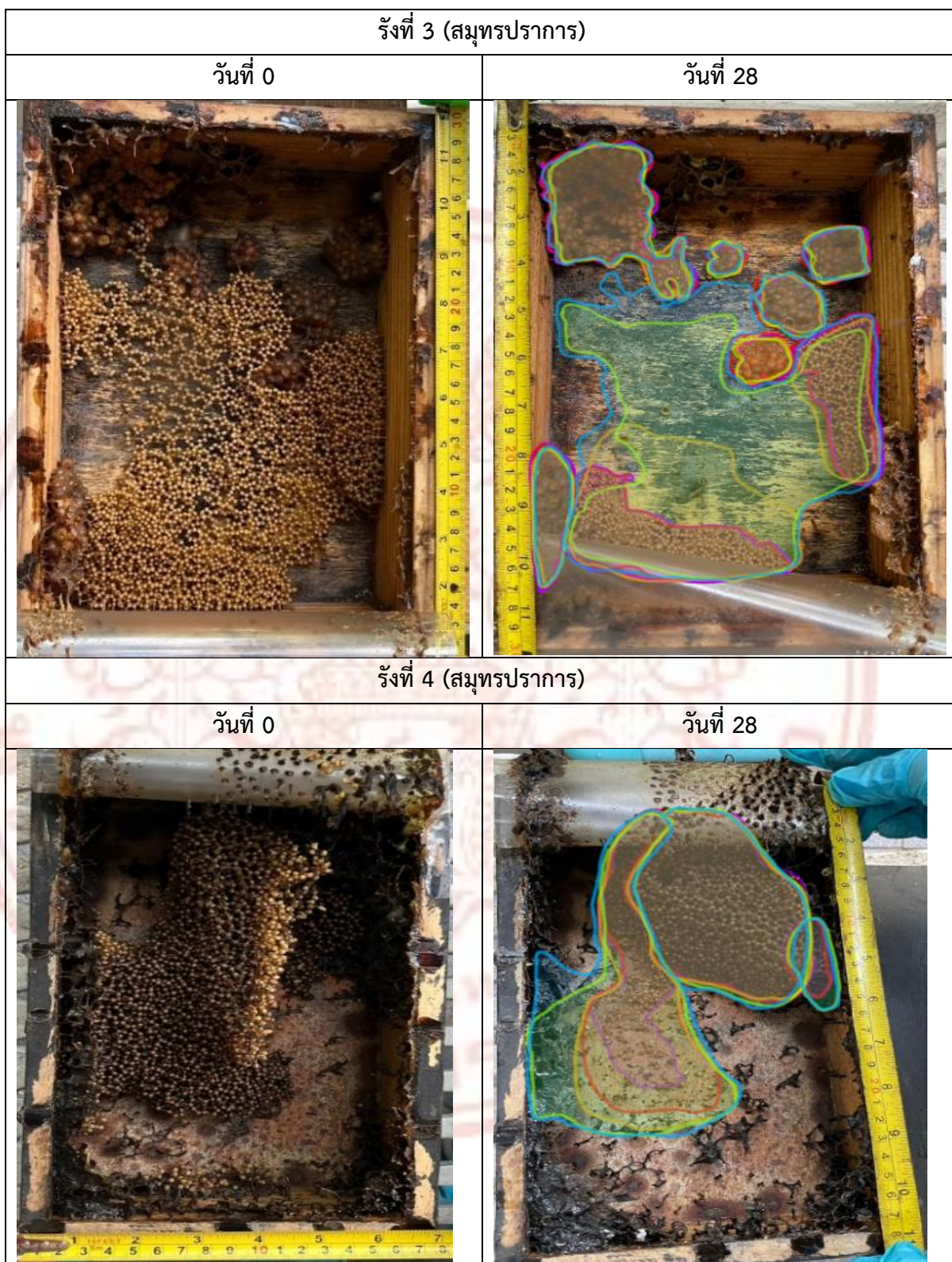
จากผลข้างต้นจะเห็นว่า รังชันโรงที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสูตร A2 มีปริมาณไข่อ่อน ไข่แก่ ถ้วยเกสรและถ้วยน้ำหวานสูงขึ้นส่งผลให้มีปริมาณน้ำผึ้งที่เก็บได้สูงกว่ารังชันโรงที่ไม่ได้ให้อาหารเสริมสูตร A2 โดยในจังหวัดระยองมีปริมาณน้ำผึ้งเพิ่มขึ้น 63.87 มิลลิลิตรและในจังหวัดสมุทรปราการมีปริมาณน้ำผึ้งเพิ่มขึ้น 87.71 มิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4-7 รังชันโรงที่ได้รับอาหารเสริมสูตร A2 พบว่าไม่เพียงแต่ช่วยยืดอายุของชันโรงงานเท่านั้น แต่ยังส่งเสริมการพัฒนาและเพิ่มขนาดของต่อม Hypopharyngeal glands (HPGs) ซึ่งเป็นต่อมที่สำคัญในการผลิตเอนไซม์และสารอาหารสำหรับชันโรง ส่งผลให้สุขภาพของรังโดยรวมดีขึ้น

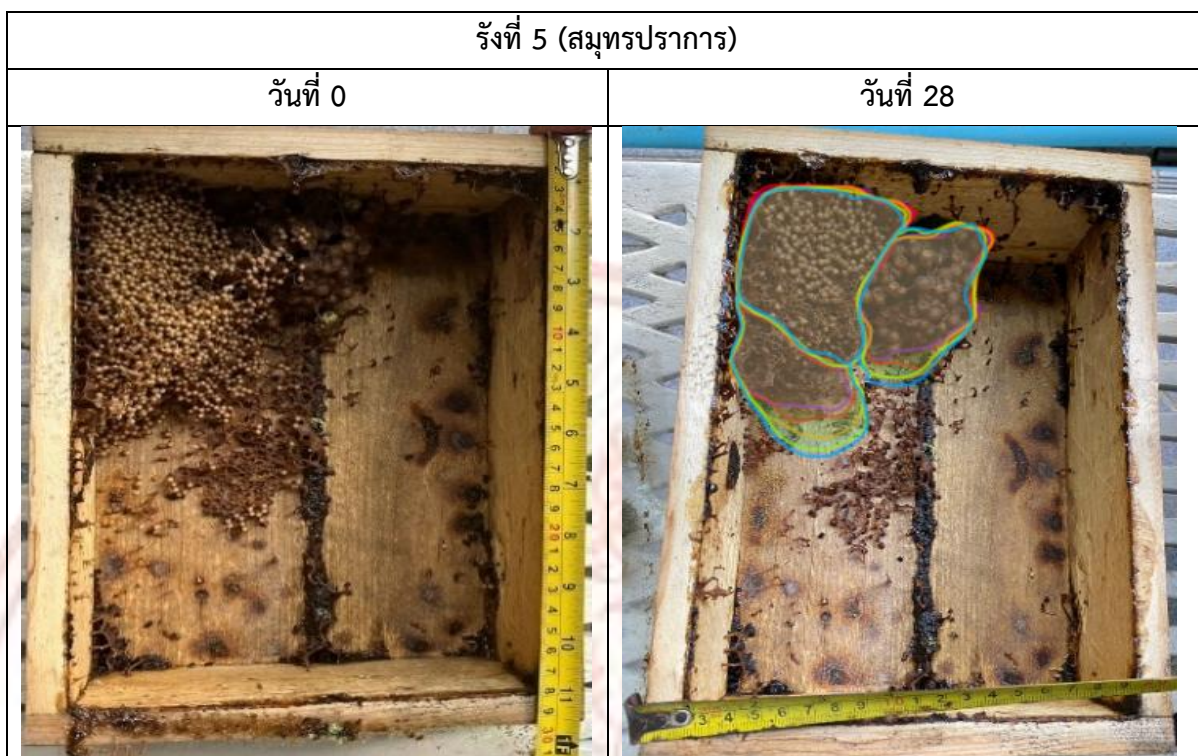
เมื่อชันโรงงานมีสุขภาพแข็งแรงและสามารถผลิตอาหารเลี้ยงนางพญาได้มากขึ้น ชันโรงนางพญาจึงได้รับสารอาหารอย่างเพียงพอ ทำให้มีสุขภาพดีและสามารถวางไข่ได้เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ประชากรภายในรังเพิ่มจำนวนตามมา ซึ่งนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของแรงงานในการหาอาหาร รวมถึงการสร้างถ้วยน้ำผึ้ง ถ้วยเกสร และจำนวนไข่อ่อนกับไข่แก่ภายในรังที่มากขึ้นในภาพรวม ผลลัพธ์คือปริมาณน้ำผึ้งที่ผลิตได้จากรังที่ได้รับอาหารเสริมสูตร A2 มีค่าสูงกว่ารังที่ไม่ได้รับอาหารเสริมอย่างชัดเจน

โดยการเปลี่ยนแปลงของรังชันโรง สังเกตจากการวัดขนาดในโปรแกรม ImageJ ในการวิเคราะห์ข้อมูลโดย สีต่าง ๆ มีความหมายดังนี้ สีฟ้า = วันที่ 0 สีเขียว = วันที่ 7 สีส้ม = วันที่ 14 สีแดง = วันที่ 21 และ สีม่วง = วันที่ 28 ในการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 4-5 และ 4-6

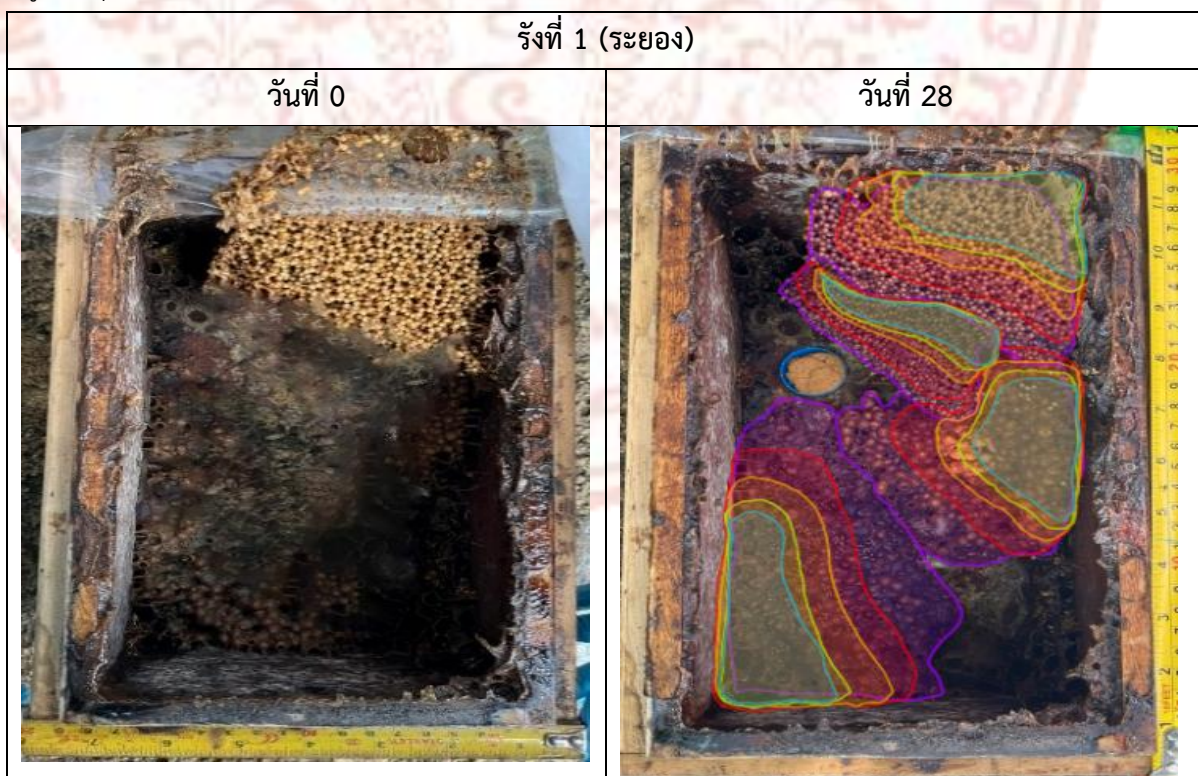
ตารางที่ 4-5 การเปลี่ยนแปลงภายในรังชันโรงขนเงินชุดควบคุมที่ไม่ได้รับอาหารเสริมสูตร A2 ภายใต้การทดสอบในระดับภาคสนาม ในพื้นที่จังหวัดระยองและจังหวัดสมุทรปราการ เป็นเวลา 28 วัน ในช่วงฤดูฝน (ตุลาคม - พฤศจิกายน)

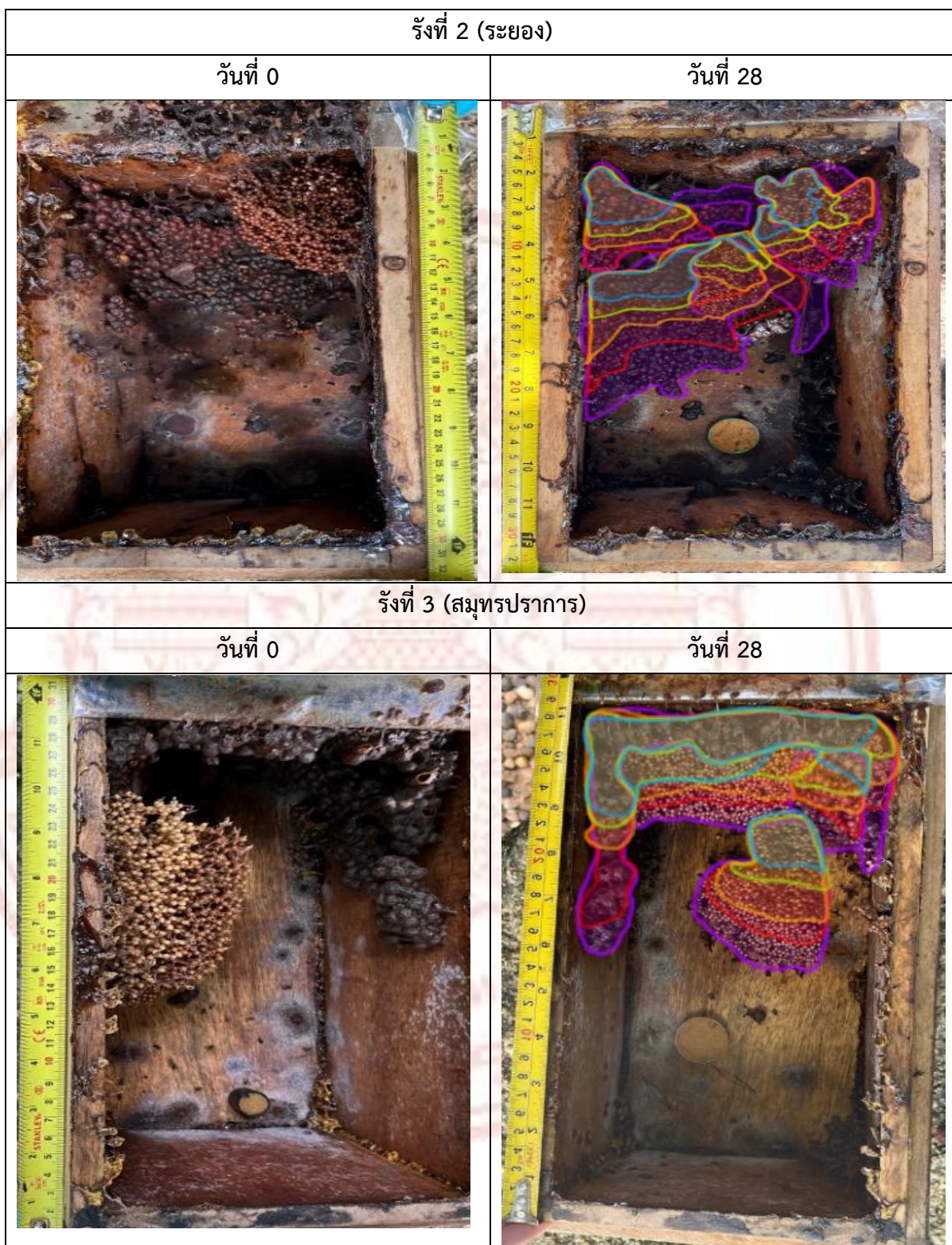
รังที่ 1 (ระยอง)	
วันที่ 0	วันที่ 28
	
รังที่ 2 (ระยอง)	
วันที่ 0	วันที่ 28
	

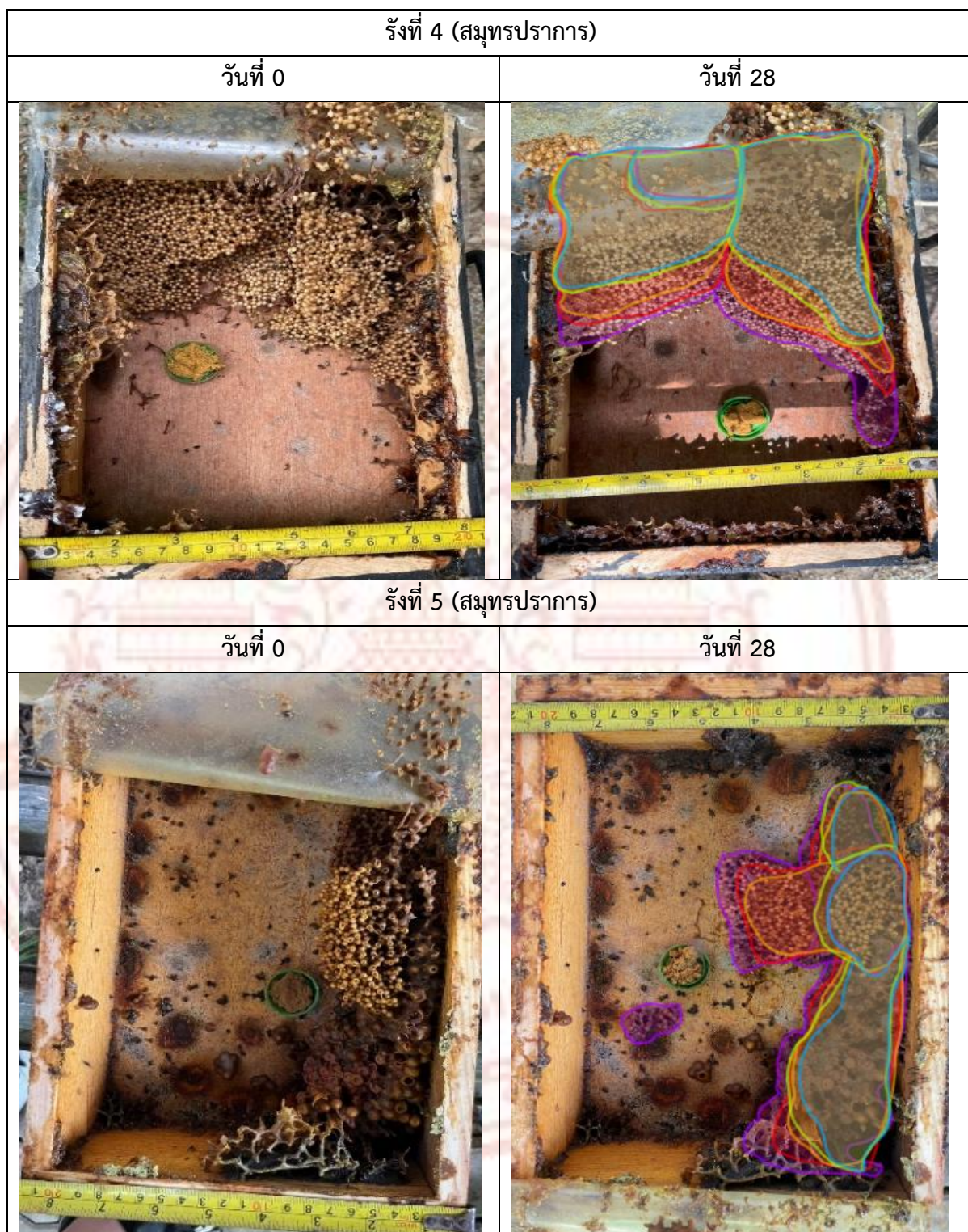


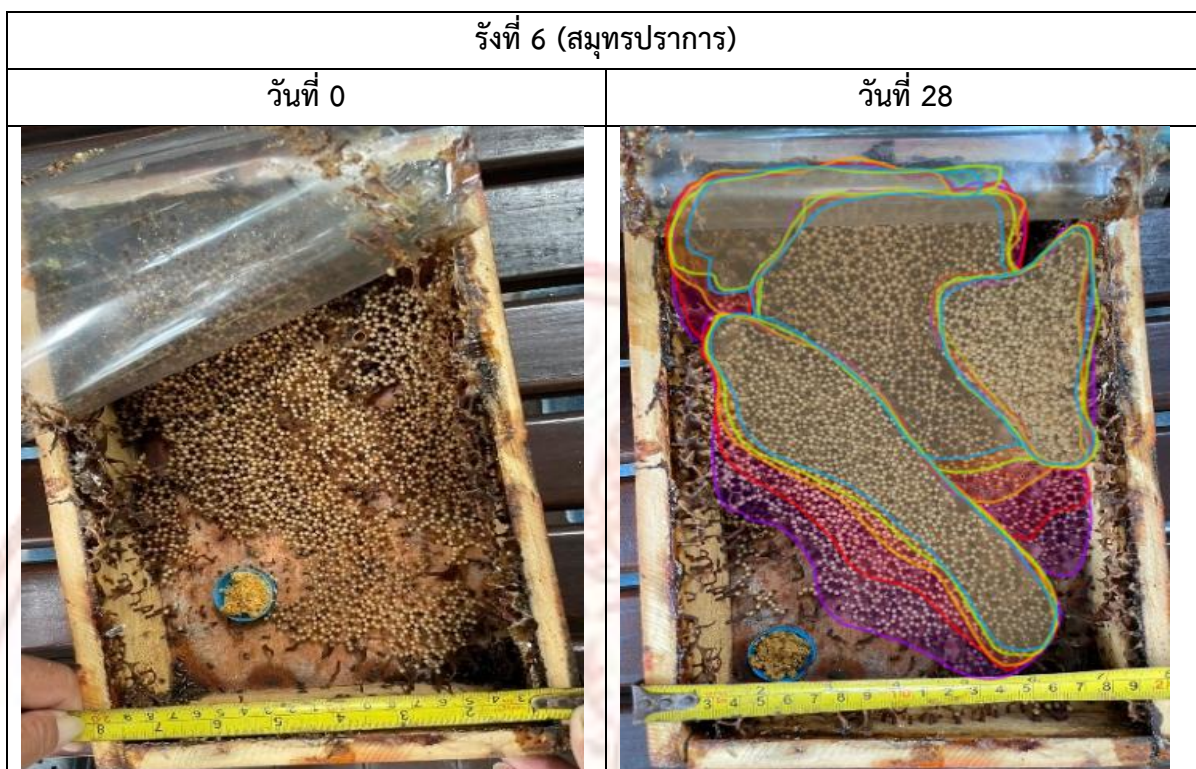


ตารางที่ 4-6 การเปลี่ยนแปลงภายในรังชันโรงขนเงินเมื่อได้รับการให้อาหารเสริมสูตร A2 ภายใต้การทดสอบในระดับภาคสนาม ในพื้นที่จังหวัดระยองและจังหวัดสมุทรปราการ เป็นเวลา 28 วัน ในช่วงฤดูฝน (ตุลาคม - พฤศจิกายน)









ตารางที่ 4-7 แสดงพื้นที่ที่เพิ่มขึ้นขององค์ประกอบของรังชันโรงขนเงินที่ทำการทดสอบในระดับภาคสนาม (ร้อยละ)

กลุ่ม	ไข่อ่อน (ตาราง เซนติเมตร)	ไข่อแก่ (ตาราง เซนติเมตร)	ถ้วยเกสร (ตาราง เซนติเมตร)	ถ้วยน้ำผึ้ง (ตาราง เซนติเมตร)	ปริมาณน้ำผึ้ง ที่เก็บได้ (มิลลิลิตร)
ชุดควบคุม (ระยอง)	เพิ่มขึ้น 17.74±0.57	เพิ่มขึ้น 22.94±3.99	เพิ่มขึ้น 27.83±9.85	เพิ่มขึ้น 22.09±4.84	69.74±1.85
เลี้ยงด้วย A2 (ระยอง)	เพิ่มขึ้น 71.13±7.65	เพิ่มขึ้น 104.69±27.91	เพิ่มขึ้น 81.54±22.20	เพิ่มขึ้น 57.83±12.75	133.61± 27.35
ชุดควบคุม (สมุทรปราการ)	เพิ่มขึ้น 41.99±11.24	เพิ่มขึ้น 44.94±4.77	เพิ่มขึ้น 28.69±4.90	เพิ่มขึ้น 28.51±7.24	48.86±3.53
เลี้ยงด้วย A2 (สมุทรปราการ)	เพิ่มขึ้น 69.72±10.39	เพิ่มขึ้น 82.65±14.07	เพิ่มขึ้น 50.48±15.99	เพิ่มขึ้น 51.90±4.22	136.57± 5.59

ในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น ผู้วิจัยไม่สามารถดำเนินการทดสอบในระดับภาคสนามให้สำเร็จลุล่วงได้ เนื่องจากปัญหารังลุ่มสลายที่รุนแรง โดยในชุดควบคุมในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น เกิดปัญหารังลุ่มสลายทั้งหมด และรังที่ทดสอบอาหารเสริมพบว่า มีอัตราการเพิ่มขึ้นขององค์ประกอบของรังชั้นโรงที่น้อยมาก และเกิดปัญหารังลุ่มสลายกว่าร้อยละ 60 ทำให้ไม่สามารถทำการทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเสริมได้ เนื่องจากปัจจัยของอุณหภูมิในพื้นที่นา 3 ดี จังหวัดขอนแก่น ที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยวัดได้สูงกว่า 38 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญของชั้นโรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งตัวอ่อน ทำให้เกิดภาวะไข่อ่อนฝ่อ จำนวนประชากรลดลงเรื่อย ๆ และเข้าสู่ภาวะรังลุ่มสลายในที่สุด สำหรับกลุ่มที่ให้อาหารเสริม สามารถยืดเวลาของรังชั้นโรงไม่ให้เข้าสู่การลุ่มสลายออกไปได้ แต่มีการเจริญขององค์ประกอบต่าง ๆ ที่น้อยมาก (น้อยกว่าร้อยละ 5) ทำให้สามารถทำได้เพียงเก็บตัวอย่างชั้นและน้ำผึ้ง เพื่อศึกษาสมบัติคุณภาพและความปลอดภัยเท่านั้น

4.4 ผลการศึกษาสมบัติทางกายภาพของน้ำผึ้งชั้นโรงขนเงิน

ตารางที่ 4-8 แสดงผลของค่า pH อุณหภูมิ ปริมาณของแข็งละลาย ค่าสี และปริมาณความชื้น

พารามิเตอร์	ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)	ปริมาณของแข็งละลาย (%°Brix)	ปริมาณความชื้น (%MC)	ค่าสี (mm Pfund)
RY-C	3.51±0.01 ^c	76.27±0.46 ^a	16.76±0.32 ^a	47.46±1.34 ^b
RY-T	3.42±0.01 ^b	80.93±0.23 ^b	17.56±0.58 ^a	46.84±4.48 ^b
SP-C	4.16±0.01 ^e	90.93±1.22 ^c	17.92±0.29 ^a	125.95±3.51 ^d
SP-T	3.84±0.01 ^d	88.53±1.67 ^c	17.30±0.02 ^a	106.64±9.86 ^c
KK-T	3.32±0.01 ^a	81.60±0.10 ^b	17.92±0.29 ^a	25.55±5.16 ^a
มกษ. 8005-2567	2.5 - 4.0	-	ไม่เกิน 35	-

จากผลของการวิเคราะห์จำนวน 4 ตัวอย่าง จากแหล่งเพาะเลี้ยงในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียง (จังหวัดระยอง) และภาคกลาง (จังหวัดสมุทรปราการ) พบว่า ตัวอย่างน้ำผึ้งชั้นโรงมีสมบัติทางกายภาพในด้านของ ค่าความเป็นกรดต่าง (pH), ปริมาณของแข็งละลาย (%°Brix), ปริมาณความชื้น (%MC) และค่าสี (mm Pfund) ผ่านเกณฑ์มาตรฐานน้ำผึ้ง

4.4 ผลการศึกษาความปลอดภัย ได้แก่ ปริมาณโลหะหนัก 6 ชนิด และ ทางด้านจุลชีววิทยา น้ำดื่มชั้นโรงขนเงิน

ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้ตรวจวัดปริมาณโลหะหนัก 6 ชนิด ได้แก่ โครเมียม (Cr), ทองแดง (Cu), แคดเมียม (Cd), โคบอลต์ (Co), สารหนู (As) และตะกั่ว (Pb) ในน้ำดื่มชั้นโรงขนเงินจำนวน 5 ตัวอย่างจากแหล่งเพาะเลี้ยงในจังหวัดระยอง สมุทรปราการ และขอนแก่น โดยใช้เครื่อง ICP-OES ผลการทดสอบพบว่า

น้ำดื่มชั้นโรงขนเงินจากแต่ละพื้นที่การทดลองไม่มีปริมาณโลหะหนักเกินเกณฑ์มาตรฐานน้ำดื่มทั้งในระดับชาติ (มกษ.8003-2556, มกษ.8005-2567 และ ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 211) พ.ศ. 2543 เรื่องน้ำดื่ม) และนานาชาติ (EU Commission Regulation (EC) และ มาตรฐานโลหะหนักในอาหารและน้ำดื่มประเทศจีน) ในตัวอย่างจากจังหวัดระยองที่พบปริมาณทองแดง (Cu) เล็กน้อย ทั้งในรังที่ได้รับและไม่ได้รับอาหารเสริม อาจเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ เนื่องจากกิจกรรมอุตสาหกรรมและมนุษย์เป็นหลัก และในจังหวัดระยองเป็นจังหวัดที่มีนิคมอุตสาหกรรมขนาดใหญ่และหลากหลายกิจกรรมทางเศรษฐกิจที่อาจปล่อยโลหะหนักสู่สิ่งแวดล้อมได้ อย่างไรก็ตาม ปริมาณทองแดงที่พบยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำดื่มของประเทศจีน

จากผลการวิเคราะห์ความปลอดภัยด้านจุลชีววิทยาของตัวอย่างน้ำดื่มชั้นโรงขนเงิน จำนวน 5 ตัวอย่าง จากแหล่งเพาะเลี้ยงในพื้นที่ภาคตะวันออก (จังหวัดระยอง) ภาคกลาง (จังหวัดสมุทรปราการ) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จังหวัดขอนแก่น) (ตารางที่ 4-10) พบว่า ตัวอย่างน้ำดื่มชั้นโรงมีความปลอดภัยด้านจุลชีววิทยาจากกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค จุลินทรีย์ในกลุ่มของ Coliform, Fecal coliform, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. และ *Staphylococcus aureus* ผ่านเกณฑ์มาตรฐานน้ำดื่ม มกษ 8003-2556 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 211) พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำดื่ม และมาตรฐานน้ำดื่มชั้นโรงมาเลเซีย (ตารางที่ 4-8) มีเพียงน้ำดื่มชั้นโรงจากจังหวัดขอนแก่นเท่านั้นที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานด้านปริมาณยีสต์และราตาม มกษ. 8005-2567 สาเหตุเป็นเพราะพื้นที่จังหวัดขอนแก่นมีอุณหภูมิสูงแต่ความชื้นต่ำ จึงส่งผลให้น้ำดื่มมีความชื้นต่ำตามไปด้วย ซึ่งสภาพนี้ไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของยีสต์และรา ทำให้ปริมาณของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดในน้ำดื่มลดลงจนอยู่ในระดับที่ผ่านมาตรฐาน

สำหรับปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในตัวอย่างน้ำดื่มชั้นโรง ถึงแม้ว่าจะไม่มีการกำหนดเกณฑ์ไว้ในมาตรฐานน้ำดื่ม มกษ 8003-2556, ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 211) พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำดื่ม แต่หากนำผลการวิเคราะห์ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับมาตรฐานน้ำดื่มชั้นโรงของประเทศมาเลเซียจะพบว่า ตัวอย่างมีค่าเกินมาตรฐานดังกล่าว ในส่วนของปริมาณยีสต์และราพบว่า ตัวอย่างน้ำดื่มชั้นโรงไม่ผ่านมาตรฐานน้ำดื่ม มกษ 8003-2556 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 211)

พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำผึ้ง แต่บางส่วนผ่านเกณฑ์มาตรฐานของน้ำผึ้งชั้นโรงประเทศมาเลเซีย ซึ่งอาจเกิดจากการปนเปื้อนจากอุปกรณ์หรือขั้นตอนการเก็บเกี่ยวน้ำผึ้ง

จากผลการทดสอบความปลอดภัยทางจุลชีววิทยาของน้ำผึ้งชั้นโรงที่ผลิตในแต่ละพื้นที่ พบว่า แม้จะมีการจัดการฟาร์มที่ดีตามมาตรฐานแล้ว แต่น้ำผึ้งชั้นโรงจากหลายพื้นที่ในประเทศไทยยังมีปัญหาการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในระดับสูง สาเหตุหลักมาจากกระบวนการเก็บเกี่ยวน้ำผึ้งที่ไม่ถูกสุขลักษณะ และการขาดความเข้าใจของเกษตรกรเกี่ยวกับจุดเสี่ยงที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนในแต่ละขั้นตอนของการผลิต โดยเฉพาะในช่วงเก็บเกี่ยวและการปรับปรุงคุณภาพน้ำผึ้งก่อนบรรจุ เช่น การอบหรือบ่มน้ำผึ้งเพื่อลดปริมาณยีสต์ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ทั่วไปในน้ำผึ้งชั้นโรง ให้ลดลงให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน เพื่อความปลอดภัยก่อนส่งถึงมือผู้บริโภค



ตารางที่ 4-9 ผลการวิเคราะห์โลหะ 6 ชนิดในตัวอย่างน้ำฝิ่งชั้นโรงขนเงินด้วยเครื่อง ICP-OES

ตัวอย่างน้ำฝิ่งชั้นโรงขนเงิน	ปริมาณของโลหะ (มีลิกนด์ต่อลิตร)					
	โครเมียม (Cr)	ทองแดง (Cu)	แคดเมียม (Cd)	โคบอลต์ (Co)	สารหนู (As)	ตะกั่ว (Pb)
<i>Tetragonula posdeni</i>	RY-C	ND	0.07±0.05	ND	ND	ND
	RY-T	ND	0.01±0.00	ND	ND	ND
	SP-C	ND	ND	ND	ND	ND
	SP-T	ND	ND	ND	ND	ND
	KK-T	ND	ND	ND	ND	ND
มกษ. 8003-2556	-	-	-	-	0.20	0.50
มกษ. 8005-2567	-	-	-	-	-	0.1
ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 211) พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำฝิ่ง	-	-	-	-	0.20	0.50
EU Commission Regulation (EC) No. 1881/2006	-	-	0.05 – 0.30	-	-	0.10 - 0.50
มาตรฐานโลหะหนักในอาหารและน้ำฝิ่งประเทศจีน	-	5.00	0.05	-	0.10	1.00

*หมายเหตุ C = ชุดควบคุมที่ไม่มีการให้อาหารเสริมสูตร A2, T = ชุดที่มีการให้อาหารเสริมสูตร A2

ตารางที่ 4-10 ผลการวิเคราะห์ความปลอดภัยด้านจุลชีววิทยาของน้ำผิ่ชั้นโรงขนเงิน

ตัวอย่าง	ยีสต์และรา (CFU ต่อมิลลิลิตร)	Total Plate count (CFU ต่อมิลลิลิตร)	แบคทีเรียแกรมบวก	แบคทีเรียแกรมลบ			
				Coliform (MPN ต่อกรัม)	Fecal coliform (MPN ต่อกรัม)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> sp. (CFU ต่อ มิลลิลิตร)
RY-C	1.19×10^3	2.20×10^3	<i>Staphylococcus aureus</i> (CFU ต่อ 0.1 กรัม)	<3	<3	ND	ND
RY-T	3.77×10^2	1.30×10^3	ND	<3	<3	ND	ND
SP-C	9.67×10^4	3.70×10^4	ND	<3	<3	ND	ND
SP-T	1.50×10^4	2.60×10^4	ND	<3	<3	ND	ND
KK-T	23.33 ± 15.28	0.67 ± 0.58	ND	<3	<3	ND	ND
มกษ.8003- 2556	<10	NR	ND	NR	NR	NR	ND
มกษ.8005- 2567	<100	NR	≤100	NR	NR	NR	ND
มาเลเซีย	<10	≤ 1×10^3	NR	<10	NR	NR	NR

*หมายเหตุ C = ชุดควบคุมที่ไม่มีการให้อาหารเสริมสูตร A2, T = ชุดที่มีการให้อาหารเสริมสูตร A2

ND = ไม่พบ (Not Detected), NR = ไม่ได้กำหนดไว้ (Non-regulated)

4.5 ผลการศึกษาสมบัติในการยับยั้งจุลชีพในน้ำผึ้งชันโรงขนเงิน

ตารางที่ 4-11 แสดงผลการทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งชันโรงด้วยวิธี Agar disc diffusion assay

จุลินทรีย์	ตัวอย่าง	Agar disc diffusion assay
		Inhibition zone (มิลลิเมตร)
<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) ATCC25922	Ampicillin	10.77±0.60
	RY-C	18.18±1.68 ^c
	RY-T	14.03±1.55 ^b
	SP-C	8.70±1.64 ^a
	SP-T	7.17±0.27 ^a
	KK-T	13.62±1.67 ^b
<i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> (MRSA) ATCC43300	Ampicillin	9.70±0.33
	RY-C	6.88±0.28 ^a
	RY-T	6.88±0.33 ^a
	SP-C	6.47±0.10 ^a
	SP-T	6.42±0.16 ^a
	KK-T	12.74±3.05 ^b
<i>Candida albicans</i> (<i>C. albicans</i>) ATCC10231	Ketoconazole	22.45±0.87
	RY-C	5.92±0.03 ^a
	RY-T	5.97±0.10 ^a
	SP-C	5.97±0.29 ^a
	SP-T	6.05±0.18 ^a
	KK-T	5.82±0.25 ^a

*หมายเหตุ Control (+) หมายถึง ตัวควบคุมบวกสำหรับแบคทีเรียซึ่งใช้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน (Ampicillin) ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร และตัวควบคุมบวกสำหรับยีสต์ซึ่งใช้ยาต้านเชื้อราคีโตโคนาโซล (Ketoconazole) ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร

ผลการทดสอบสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งชันโรงขนเงินแสดงดังตารางที่ 4-11 พบว่า น้ำผึ้งชันโรงขนเงินที่ได้จากพื้นที่จังหวัดระยอง สมุทรปราการ และขอนแก่น สามารถยับยั้ง *E. coli*, *MRSA* และ *C. albicans* ได้ใกล้เคียงกัน ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า การให้อาหารเสริมในการเลี้ยง

ชั้นโรงไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของน้ำฝั้ชั้นโรง ทั้งนี้ น้ำฝั้ชั้นโรงในพื้นที่จังหวัดขอนแก่นมีสมบัติในการยับยั้ง MRSA ได้ดีและสูงที่สุด

4.6 ผลการศึกษาสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำฝั้ชั้นโรงขอนแก่น

ตารางที่ 4-12 แสดงผลการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระของน้ำฝั้ชั้นโรงด้วยวิธี DPPH radical scavenging และวิธี ABTS radical scavenging

ตัวอย่าง	DPPH (ร้อยละการยับยั้ง)	ABTS (ร้อยละการยับยั้ง)
RY-C	4.33±0.78 ^d	8.08±1.17 ^d
RY-T	7.18±1.31 ^c	13.04±0.99 ^c
SP-C	24.97±1.90 ^a	58.06±1.10 ^a
SP-T	17.75±1.13 ^b	35.65±0.52 ^b
KK-T	7.12±0.22 ^c	14.61±1.26 ^c

*หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลตามแนวดิ่งที่แตกต่างกัน แสดงว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำฝั้ชั้นโรงขอนแก่นด้วยวิธี DPPH radical scavenging และ ABTS radical scavenging ตารางที่ 4-12 พบว่า ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำฝั้ชั้นโรงขอนแก่นอยู่ในช่วงร้อยละ 7.12±0.22 – 24.97±1.90 และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของน้ำฝั้ชั้นโรงขอนแก่นอยู่ในช่วงร้อยละ 8.08±1.17 ถึง 58.06±1.10 ที่ความเข้มข้นของน้ำฝั้ชั้นโรงที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.7 ผลการศึกษาปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสในตัวอย่างน้ำฝั้ชั้นโรง

ผลการทดสอบปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสในน้ำฝั้ชั้นโรงด้วยเทคนิค MS Q-TOF โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน พบว่า น้ำตาลทรีฮาโลส พบเฉพาะในน้ำฝั้ชั้นโรงเท่านั้น และไม่พบในน้ำฝั้จากผั้พันธุ์หรือผั้โพรง นอกจากนี้ น้ำฝั้จากชั้นโรงที่ได้รับอาหารเสริมมีปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสเพิ่มขึ้นกว่า 2 เท่าทุกพื้นที่ที่ทดสอบ เกี่ยวเนื่องจากในชั้นโรงที่ได้รับอาหารเสริมสูตร A2 ซึ่งมีขนาดของต่อมไฮโปฟาริงจ์ (ต่อมที่สร้างเอนไซม์ในการเปลี่ยนซูโครสเป็นทรีฮาโลส) แตกต่างจากชั้นโรงที่ไม่ได้รับอาหารเสริมถึง 1.82 เท่า น้ำตาลทรีฮาโลสในน้ำฝั้ชั้นโรงเกิดจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลซูโครสโดยเอนไซม์ที่สร้างในต่อมไฮโปฟาริงจ์ซึ่งอยู่บริเวณส่วน

หัวของชั้นโรง โดยในชั้นโรงที่ได้รับอาหารเสริมจะมีการผลิตเอนไซม์นี้มากขึ้น ส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสสูงกว่าชั้นโรงที่ไม่ได้รับอาหารเสริม

นอกจากนี้ ปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่สามารถอธิบายได้จากแหล่งอาหารของชั้นโรงในแต่ละพื้นที่ ซึ่งมีปริมาณโปรตีนที่แตกต่างกัน ทำให้ขนาดของต่อมไฮโปฟาริงซ์ที่ทำหน้าที่ในการผลิตเอนไซม์ที่เปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลทรีฮาโลสแตกต่างกัน ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสในน้ำผึ้งจากแต่ละพื้นที่มีค่าไม่เท่ากัน

ตารางที่ 4-13 แสดงปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสที่พบในตัวอย่างน้ำผึ้งโดยเทคนิค MS Q-TOF

ตัวอย่าง	ปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลส (ไมโครกรัมต่อกรัม)
RY-C	59.83
RY-T	114.27
SP-C	32.12
SP-T	102.21
KK-T	92.74
น้ำผึ้งพันธุ์	ไม่พบ
น้ำผึ้งโพรง	ไม่พบ

4.8 ผลการศึกษาพืชอาหารของชั้นโรงโดยวิธีทางเรณูวิทยา

จากการตรวจสอบชนิดของดอกไม้หลักที่เป็นแหล่งน้ำหวานของน้ำผึ้งชั้นโรงชนเงิน โดยการใช้การวิเคราะห์ละอองเรณูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เปรียบเทียบกับฐานข้อมูลวิจัยและการเก็บตัวอย่างดอกไม้จากแหล่งเพาะเลี้ยง พบว่า น้ำผึ้งชั้นโรงจากแหล่งเพาะเลี้ยงต่าง ๆ มีชนิดของเกสรดอกไม้ในน้ำผึ้งมาจากพืชที่ปลูกกระยะการหาอาหารของชั้นโรง รัศมี 300 - 500 เมตรจากรังชั้นโรง ผู้วิจัยสามารถระบุชนิดของเกสรได้อย่างแม่นยำ เนื่องจากมีฐานข้อมูลละอองเรณูและตัวอย่างดอกไม้จากพื้นที่เพาะเลี้ยงเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 4-14 พบว่า น้ำผึ้งชั้นโรงจากแหล่งเพาะเลี้ยงในจังหวัดขอนแก่นที่ได้รับอาหารเสริมสูตร A2 (KK-T) จัดเป็นน้ำผึ้งที่ผลิตจากดอกไม้หลักชนิดเดียว เนื่องจากมีละอองเรณูจากดอกกระถินณรงค์ (*Acacia auriculiformis*) มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 58.14 ของละอองเรณูทั้งหมด ส่วนในจังหวัดระยอง น้ำผึ้งจากทั้งกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการให้อาหารเสริม (RY-C) และกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมสูตร A2 (RY-T) ก็จัดเป็นน้ำผึ้งที่ผลิตจากดอกไม้หลักชนิดเดียว โดยมีละอองเรณูจาก

ดอกปัดตาเวีย (*Jatropha integririma*) มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 52.75 และ 54.75 ตามลำดับ สำหรับจังหวัดสมุทรปราการ น้ำผึ้งจากทั้งกลุ่มควบคุม (SP-C) และกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริม (SP-T) จัดเป็นน้ำผึ้งที่ผลิตจากดอกไม้หลักชนิดเดียวกัน โดยมีละอองเรณูจากดอกต้นจาก (*Nypa fruticans* Wurmb) มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 47.99 ของละอองเรณูทั้งหมด ผลการศึกษานี้ช่วยยืนยันว่าชันโรงมีแนวโน้มเลือกเก็บน้ำหวานจากแหล่งอาหารที่อยู่ใกล้รัง

ตารางที่ 4-14 แสดงการศึกษาพืชอาหารของชันโรงโดยวิธีทางเรณูวิทยาโดยแสดงชนิดของพืชเกสรเด่นและพืชเกสรรองของน้ำผึ้งชันโรงชนเงิน

รหัสตัวอย่าง	ลักษณะพื้นที่	พืชเกสรเด่น (ร้อยละ)	พืชเกสรรอง (ร้อยละ)
RY-C	สวนหย่อมประกอบ ด้วยไม้ดอก และไม้ประดับ	ปัดตาเวีย (<i>Jatropha integririma</i>) (52.75)	เข็มพวงขาว (<i>Siamese white ixora</i>) (27.51)
RY-T		ปัดตาเวีย (<i>Jatropha integririma</i>) (54.75)	เข็มพวงขาว (<i>Siamese white ixora</i>) (13.77)
SP-C	พื้นที่ใกล้กับชุมชน และป่าจาก บริเวณริมแม่น้ำ เจ้าพระยา และสวนผลไม้	จาก (<i>Nypa fruticans</i> Wurmb) (47.99)	คนทีสอ (<i>Vitex trifolia</i>) (19.54)
SP-T		จาก (<i>Nypa fruticans</i> Wurmb) (47.99)	ทองอุไร (<i>Tecoma stans</i>) (32.18)
KK-C	บ้านกลางทุ่งนา และป่ากระถินณรงค์	ไม่มีข้อมูล เนื่องจากรังชันโรงล่ม	ไม่มีข้อมูล เนื่องจากรังชันโรงล่ม
KK-T		กระถินณรงค์ (<i>Acacia auriculiformis</i>) (58.14)	unknown (12.79)

*หมายเหตุรหัสตัวอย่าง

RY-C คือ รังที่ไม่ได้ให้อาหารเสริมชันโรงในพื้นที่จังหวัดระยอง

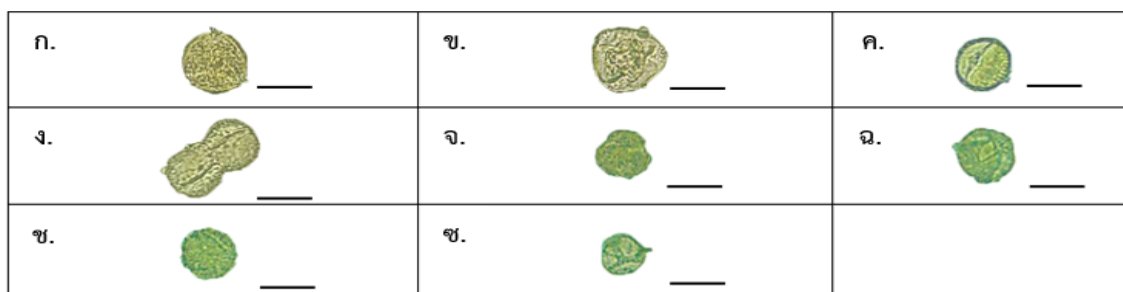
RY-T คือ รังที่ให้อาหารเสริมชันโรงในพื้นที่จังหวัดระยอง

SP-C คือ รังที่ไม่ได้ให้อาหารเสริมชันโรงในพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการ

SP-T คือ รังที่ให้อาหารเสริมชันโรงในพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการ

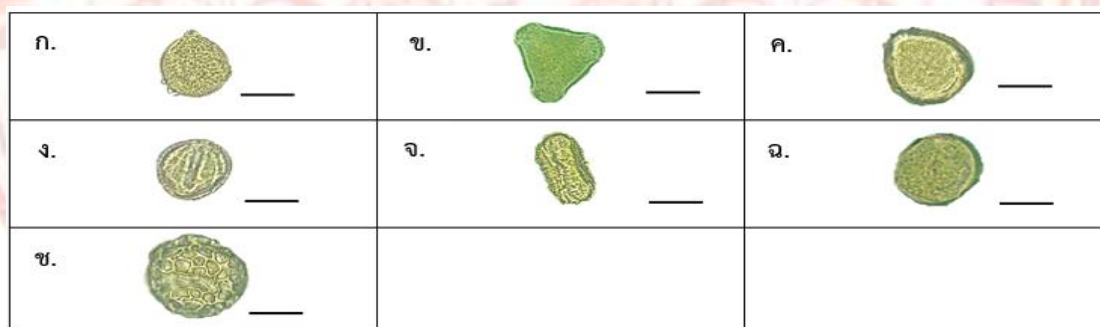
KK-C คือ รังที่ไม่ได้ให้อาหารเสริมชั้นโรงในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น

KK-T คือ รังที่ให้อาหารเสริมชั้นโรงในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น



ภาพที่ 4-7 ภาพถ่ายของละอองเรณูที่พบในตัวอย่างน้ำผึ้งชั้นโรงรหัส RY-C ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

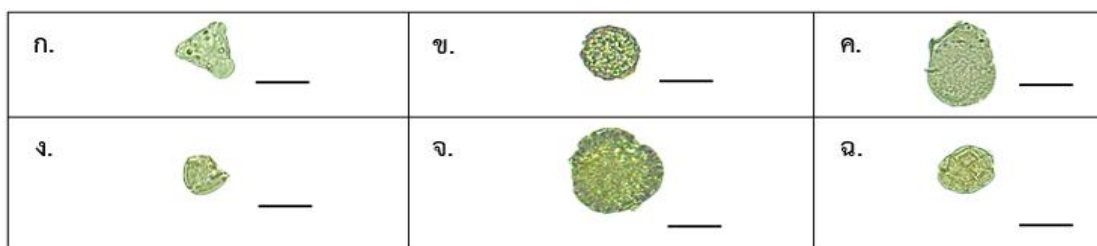
ก. ปัตตาเวีย (*Jatropha integerrima*), ข. ปีบทอง (*Mayodendron igneum*), ค. เข็มพวงขาว (*Ixora finlaysoniana*), ง. บุษบาฮาวายต่าง (*Asystasia gangetica*), จ. สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides*), ฉ. ประทัดจีน (*Russelia equisetiformis*), ช.-ซ. Unknown
มาตราส่วน = 10 ไมโครเมตร.



ภาพที่ 4-8 ภาพถ่ายของละอองเรณูที่พบในตัวอย่างน้ำผึ้งชั้นโรงรหัส RY-T ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ก. ปัตตาเวีย (*Jatropha integerrima*), ข. ดอกตั๋ยติ่ง (*Ruellia tuberosa*), ค. ปีบทอง (*Mayodendron igneum*), ง. เข็มพวงขาว (*Ixora finlaysoniana*), จ. บุษบาฮาวายต่าง (*Asystasia gangetica*), ฉ. ไมยราบ (*Mimosa pudica*), ช. บานไม่รู้โรย (*Gomphrena celosioides*)

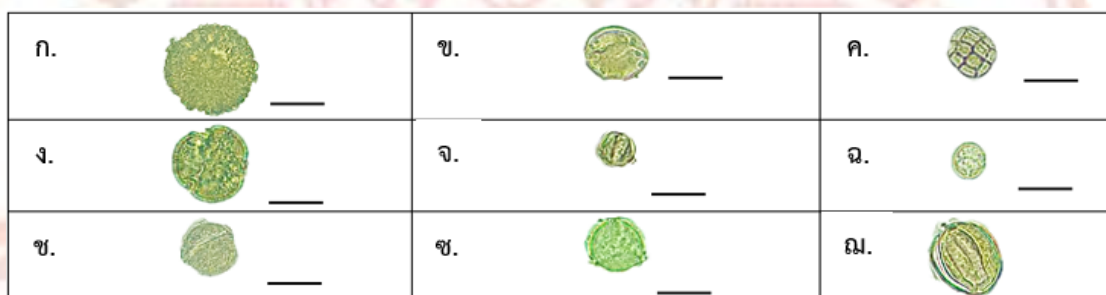
มาตราส่วน = 10 ไมโครเมตร



ภาพที่ 4-9 ภาพถ่ายของละอองเรณูที่พบในตัวอย่างน้ำผึ้งชั้นโรงรหัส SP-C ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ก. ดอกต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa*), ข. คนทีสอ (*Vitex trifolia*), ค. มะพูด (*Garcinia dulcis*), ง. มะเฟือง (*Averrhoa carambola*), จ. จาก (*Nypa fruticans* Wurm), ฉ. กระจินณรงค์ (*Acacia auriculiformis*)

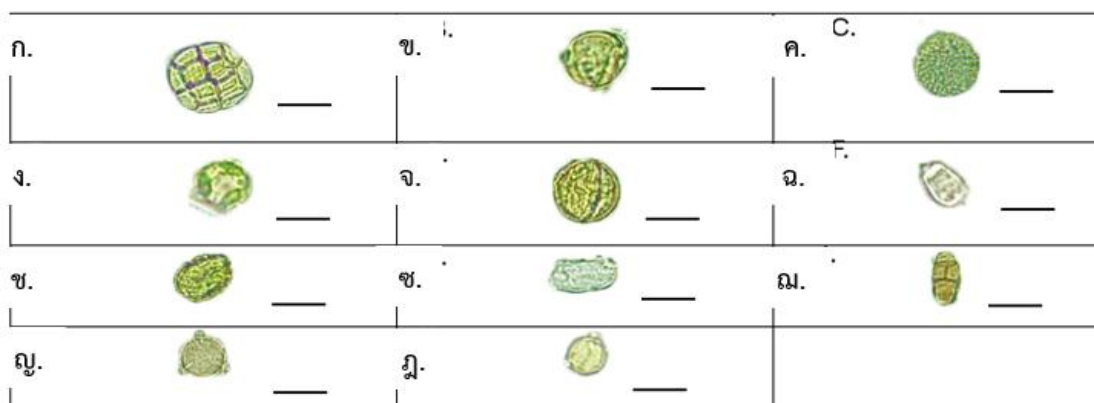
มาตราส่วน = 10 ไมโครเมตร.



ภาพที่ 4-10 ภาพถ่ายของละอองเรณูที่พบในตัวอย่างน้ำผึ้งชั้นโรงรหัส SP-T ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ก. จาก (*Nypa fruticans* Wurm), ข. ประดู่ (*Pterocarpus macrocarpus*), ค. กระจินณรงค์ (*Acacia auriculiformis*), ง. ราชนฤกษ์ (*Cassia fistula*), จ. ทองอุไร (*Tecoma stans*), ฉ. ดอกแก้ว (*Murraya paniculate*), ช. ดอกเข็ม (*Ixora stricta* Roxb), ซ. Unknown, ณ. หมากเหลือง (*Dypsis lutescens*)

มาตราส่วน = 10 ไมโครเมตร



ภาพที่ 4-11 ภาพถ่ายของละอองเรณูที่พบในตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรงรหัส KK-T ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ก. กระถินณรงค์ (*Acacia auriculiformis*), ข. ไมยราบ (*Mimosa pudica*), ค. unknown ง. Unknown, จ. ดอกเข็ม (*Ixora stricta*), ฉ. มะพร้าว (*Cocos nucifera*), ช. ไดโอดี (*Diodia aulacosperm*), ซ. ต้นกิงกุ่มน้อย (*Murdannia nudiflora*), ฅ. สีเสียดแก่น (*Acacia catechu*), ญ. กระเพรา (*Ocimum tenuiflorum*), ฎ. ต้นปอ (*Broussonetia papyrifera*)

มาตราส่วน = 10 ไมโครเมตร

การวิเคราะห์เกสรดอกไม้ในน้ำผึ้งชันโรงไม่เพียงแต่ช่วยระบุแหล่งที่มาของน้ำหวานที่ชันโรงใช้ในการผลิตน้ำผึ้งและสร้างอัตลักษณ์ให้กับน้ำผึ้งชันโรงในแต่ละพื้นที่เท่านั้น แต่ยังสามารถนำข้อมูลที่เก็บรวบรวมตลอดทั้งปีมาสร้างเป็นปฏิทินดอกไม้บาน

ซึ่งช่วยให้ทราบแหล่งอาหารของชันโรงในแต่ละช่วงเวลา และปฏิทินดังกล่าวสามารถใช้เป็นแนวทางในการคาดการณ์ช่วงที่แหล่งอาหารขาดแคลน และเป็นข้อมูลสำคัญสำหรับการให้อาหารเสริมสูตร A2 จากงานวิจัยนี้ให้กับชันโรง เพื่อลดผลกระทบที่อาจเกิดขึ้น นอกจากนี้ ยังสามารถใช้เป็นแนวทางในการปลูกไม้ดอกระยะสั้นเพิ่มเติม เพื่อเพิ่มปริมาณและความหลากหลายของแหล่งอาหารให้เพียงพอต่อการดำรงชีวิตของชันโรง โดยปฏิทินดอกไม้บานที่ได้จากการศึกษาครอบคลุมพื้นที่ทดลองทั้งสามจังหวัด ได้แก่ ระยอง สมุทรปราการ และขอนแก่น



ภาพที่ 4-12 แสดงปฏิทินดอกไม้บานในพื้นที่จังหวัดระยอง

จากภาพที่ 4-12 แสดงปฏิทินดอกไม้บานในพื้นที่จังหวัดระยอง สามารถเป็นแหล่งอาหารของชันโรงได้ตลอดทั้งปี อย่างไรก็ตาม พบว่าความหลากหลายของพืชอาหารยังมีจำกัด ดังนั้น เกษตรกรในพื้นที่ควรส่งเสริมการปลูกพืชดอกชนิดอื่นเพิ่มเติม เพื่อเพิ่มความหลากหลายของแหล่งอาหาร โดยเฉพาะในช่วงเดือนมกราคมถึงพฤษภาคม (เดือนที่ 1 – 5) ซึ่งเป็นช่วงที่มีพืชอาหารให้ชันโรงน้อยที่สุด อาจจำเป็นต้องใช้อาหารเสริมจากงานวิจัยนี้เพื่อช่วยลดผลกระทบจากภาวะขาดแคลนอาหาร และป้องกันไม่ให้รังชันโรงล่มสลาย



ภาพที่ 4-13 แสดงปฏิทินดอกไม้บานในพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการ

จากภาพที่ 4-13 แสดงปฏิทินดอกไม้บานในพื้นที่จังหวัดสมุทรปราการมีความหลากหลายและมีปริมาณพืชอาหารเพียงพอตลอดทั้งปี อย่างไรก็ตาม ในช่วงเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายน (เดือนที่ 10 – 11) พบว่าปริมาณพืชอาหารลดลง เนื่องจากเป็นช่วงรอยต่อของฤดูกาลดอกไม้บาน ดังนั้น เกษตรกรในพื้นที่ควรปลูกพืชดอกที่มีอายุสั้น เช่น กะเพรา โหระพา ดาวกระจาย หรือพืชตระกูลแตง ในช่วงเวลาดังกล่าว เพื่อให้ชนโรงมีแหล่งอาหารที่เพียงพอตลอดทั้งปี หรืออาจใช้อาหารเสริมจากงานวิจัยนี้ เพื่อช่วยลดผลกระทบจากการขาดแคลนอาหารและป้องกันการล่มสลายของรัง



ภาพที่ 4-14 แสดงปฏิทินดอกไม้บานในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น

จากภาพที่ 4-14 แสดงปฏิทินดอกไม้บานในพื้นที่จังหวัดขอนแก่นมีความหลากหลายของพืชอาหารที่ดีในช่วงเดือนเมษายนถึงตุลาคม (เดือน 4 – 10) อย่างไรก็ตาม ในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงมีนาคม (เดือน 11 – 3) ซึ่งเป็นช่วงที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเผชิญกับความแห้งแล้ง ปริมาณพืชอาหารลดลงอย่างมาก ส่งผลกระทบโดยตรงต่อชนโรง เนื่องจากอาหารสะสมภายในร่างกายไม่เพียงพอสำหรับประชากรภายในร่าง และอาจนำไปสู่การล่มสลายของร่าง ดังที่พบในงานวิจัยภาคสนาม ซึ่งร่างชนโรงที่ไม่ได้รับอาหารเสริมล่มสลายทั้งหมดในช่วงการศึกษา นอกจากนี้ ยังพบว่าปริมาณน้ำผึ้งที่ผลิตได้ในจังหวัดขอนแก่นมีน้อยกว่าพื้นที่จังหวัดระยองและสมุทรปราการอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น จังหวัดขอนแก่นจึงควรเพิ่มการปลูกพืชอาหารและใช้อาหารเสริมร่วมกันในช่วงเดือนตุลาคมถึงเมษายน (เดือน 10 – 4) เพื่อป้องกันการล่มสลายของร่างชนโรงและรักษาความสมดุลของระบบนิเวศในพื้นที่

4.9 ผลการศึกษาการวิเคราะห์ต้นทุนของอาหารเสริม

ในการเพาะเลี้ยงชั้นโรงด้วยอาหารเสริมและตามธรรมชาติเป็นระยะเวลา 1 เดือน สามารถคำนวณต้นทุนอาหารเสริมสำหรับเพาะเลี้ยงชั้นโรงทั้ง 3 สูตรได้ ดังนี้ อาหารเสริมสูตร A1 มีการใช้ต้นทุนอาหารรวม 16.91 บาทต่อปริมาณอาหาร 100 กรัม อาหารเสริม สูตร A2 มีการใช้ต้นทุนอาหารรวม 19.52 บาทต่อปริมาณอาหาร 100 กรัม และอาหารเสริม สูตร A3 มีการใช้ต้นทุนอาหารรวม 25.07 บาท ต่อปริมาณอาหาร 100 กรัม (ตารางที่ 4-15) ซึ่งเห็นได้ว่า ในการเพาะเลี้ยงชั้นโรงด้วยอาหารเสริมทั้ง 3 สูตรนั้น สูตรอาหารเสริมที่มีการเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์จะมีต้นทุนที่สูงกว่าสูตรอาหารเสริมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์

ตารางที่ 4-15 ต้นทุนอาหารเสริมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงชั้นโรง 100 กรัม

อาหารเสริม	ส่วนประกอบ	ปริมาณ	ต้นทุนอาหาร (บาท)	ต้นทุนอาหาร (บาทต่อกิโลกรัม)
สูตร A1	เกสรผึ้ง	30 กรัม	15.00	16.91
	กากถั่วเหลือง	30 กรัม	1.05	
	น้ำตาลซูโครส	15 กรัม	0.36	
	น้ำสะอาด	22 มิลลิลิตร	0.11	
	ยีสต์สกัดเกรดอาหารสัตว์	3 กรัม	0.39	
สูตร A2	เกสรผึ้ง	30 กรัม	15.00	19.52
	กากถั่วเหลือง	30 กรัม	1.05	
	น้ำตาลซูโครส	15 กรัม	0.36	
	น้ำสะอาด	22 มิลลิลิตร	0.11	
	<i>Starmarella sp. CMU-15</i>	1 มิลลิลิตร	1.00	
	<i>Zygosaccharomyces sp. CMU</i>	1 มิลลิลิตร	1.00	
	<i>Lactobacillus johnsonii TSU-11</i>	1 มิลลิลิตร	1.00	
สูตร A3	เกสรผึ้ง	30 กรัม	15.00	25.07
	โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง	30 กรัม	6.60	
	น้ำตาลซูโครส	15 กรัม	0.36	
	น้ำสะอาด	22 มิลลิลิตร	0.11	
	<i>Starmarella sp. CMU-15</i>	1 มิลลิลิตร	1.00	
	<i>Zygosaccharomyces sp. CMU</i>	1 มิลลิลิตร	1.00	
	<i>Lactobacillus johnsonii TSU-11</i>	1 มิลลิลิตร	1.00	

จากการทดลองเลี้ยงชันโรงขนเงินในระดับภาคสนาม โดยใช้อาหารเสริมสูตร A2 ในพื้นที่จังหวัดระยอง สมุทรปราการ และขอนแก่น เป็นระยะเวลา 1 เดือน เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับอาหารเสริม โดยให้อาหารเสริมในปริมาณ 20 กรัมต่อรังต่อเดือน แบ่งใส่ภาชนะพลาสติกครั้งละ 5 กรัม และวางไว้บริเวณพื้นรัง พร้อมทั้งเปลี่ยนอาหารทุก 7 วันเมื่อคำนวณต้นทุนของอาหารเสริมสูตร A2 จากปริมาณการใช้จริง พบว่ามีต้นทุนเฉลี่ยเพียง 3.90 บาทต่อรังต่อเดือน ในขณะที่อาหารเลี้ยงผึ้งทางการค้าซึ่งมีราคาจำหน่าย 370 บาทต่อกิโลกรัม มีต้นทุนการใช้งานจริงประมาณ 7.40 บาทต่อรังต่อเดือน ดังตารางที่ 4-15 ดังนั้น อาหารเสริมสูตร A2 ที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้จึงสามารถลดต้นทุนการเลี้ยงชันโรงได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อเทียบกับอาหารเลี้ยงผึ้งที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

ตารางที่ 4-16 แสดงต้นทุนอาหารเสริมแต่ละสูตรที่ผึ้งชันโรงใช้จริง ในระยะเวลา 1 เดือน

อาหารเสริม	ต้นทุนอาหารเสริม (บาทต่อ 100 กรัม)	ปริมาณอาหารเสริม (กรัมต่อรังต่อเดือน)	ต้นทุนอาหารเสริม (บาทต่อรังต่อเดือน)
สูตร A2	19.52	20	3.90
อาหารเลี้ยงผึ้ง	37	20	7.40

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

5.1 ผลของอาหารเสริมต่อการขึ้นโรงงเงินในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเสริมสำหรับชั้นโรงงเงินในระดับห้องปฏิบัติการพบว่าอาหารเสริมสูตร A2 และ A3 ช่วยให้ชั้นโรงงมีอัตราการรอดชีวิตที่เพิ่มขึ้น โดยอาหารเสริมสูตร A2 และ A3 มีอัตราการรอดชีวิตที่ร้อยละ 56.67 ± 0.58 และ 67.78 ± 1.53 ตามลำดับ ส่วนอาหารสูตรควบคุม และ A1 ชั้นโรงงไม่สามารถรอดชีวิตได้จนจบการทดลองที่ 30 วันโดยชั้นโรงงตายทั้งหมดในวันที่ 17 และ 21 ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าอาหารเสริมสูตร A2 และ A3 ที่เสริมด้วยจุลินทรีย์โพรไบโอติก สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตให้แก่ชั้นโรงงเงินในระดับห้องปฏิบัติการได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเสริมสูตรควบคุมและ A1

จากการวัดขนาดของต่อม HPGs พบว่า ในระยะเวลาการเลี้ยงที่ 10 วัน พบว่าอาหารสูตร A3 ส่งผลให้ขนาดของต่อมไฮโปฟาลิงจ์มีขนาดใหญ่ที่สุด เท่ากับ 46.48 ± 4.10 ไมโครเมตร และสูตรอาหารเสริมสูตร A2, A1 และ ชุดควบคุม มีขนาดของต่อมไฮโปฟาลิงจ์เล็กลงมา 45.23 ± 1.50 , 37.60 ± 3.00 และ 37.13 ± 1.20 ไมโครเมตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าอาหารเสริม ส่งผลต่อขนาดของ HPGs ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Vanessa et.al. 2019) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ ระหว่างอาหารเสริมมีผลต่อขนาด HPGs พบว่าขนาดของ HPGs แปรผันตามคุณภาพของอาหาร ซึ่งขนาดของ HPGs สามารถบ่งบอกถึงคุณภาพของอาหารได้ แสดงว่าอาหารในงานวิจัยนี้ มีปริมาณ โปรตีนสูง และมีความสามารถในการพัฒนาและเพิ่มขนาดของ HPGs ของชั้นโรงงได้ จึงช่วยให้ชั้นโรงง มีอัตราการรอดชีวิตที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเสริมชุดควบคุม

จากผลการทดลองปริมาณไขมันในช่องท้องของชั้นโรงง ที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมทั้ง 4 สูตร ผลการศึกษาพบว่าในวันที่ 0 ปริมาณไขมันเฉลี่ยเท่ากับ 0.06 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อตัว และการเลี้ยงชั้นโรงงวันที่ 10 พบว่าอาหารเสริม สูตร A3 ส่งผลให้ชั้นโรงงมีปริมาณไขมันในช่องท้องสูงที่สุด เท่ากับ 0.12 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อตัว รองลงมาได้แก่สูตรอาหาร A2, A1 และ ชุดควบคุม เท่ากับ 0.10 ± 0.01 , 0.08 ± 0.01 และ 0.06 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อตัว ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าได้ว่าอาหารเสริมทุกสูตรช่วยให้ชั้นโรงงมีปริมาณไขมันในช่องท้องเพิ่มขึ้น ซึ่งเมื่ออ้างอิงจากงานวิจัยของ (Arrese and Soulages, 2010) ที่พบว่าปริมาณไขมันในช่องท้องจะขึ้นอยู่กับอาหารที่ชั้นโรงงได้รับและสภาพแวดล้อมถ้าปริมาณไขมันในช่องท้องมีมากแสดงว่าอาหารที่ชั้นโรงงได้รับสมบูรณ์ และในงานวิจัยนี้ไขมันในช่องท้องไม่ได้ลดลงอ้างอิงจากงานวิจัยของ (Vanessa et.al. 2019) แสดงว่าอาหารที่ชั้นโรงงได้รับมีคุณค่าทาง

โภชนาการที่เพียงพอสำหรับชั้นโรงเนื่องจากไขมันในช่องท้องช่วยในการช่วยกักเก็บสารอาหารและพลังงาน

อย่างไรก็ตามเมื่อประสิทธิภาพของอาหารเสริมสูตร A2 และ A3 นั้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ประกอบกับราคาต้นทุนของอาหารเสริมสูตร A3 นั้นมีราคาที่สูงกว่าอาหารเสริมสูตร A2 กว่าร้อยละ 15 ดังนั้นเพื่อให้เกิดความคุ้มค่าสูงสุด ผู้วิจัยจึงเลือกอาหารเสริม A2 สำหรับการทดสอบในระดับภาคสนาม

5.2 ผลของอาหารเสริมต่อการชันโรงขนเงินในระดับภาคสนาม

การศึกษาภาคสนามเกี่ยวกับการใช้อาหารเสริมในการเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงขนเงินใน 3 พื้นที่ จังหวัดระยอง จังหวัดขอนแก่น และจังหวัดสมุทรปราการ พบว่า การให้อาหารเสริมมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการพัฒนาโครงสร้างภายในรัง โดยช่วยกระตุ้นให้ชันโรงสร้างองค์ประกอบสำคัญ เช่น ถ้วยน้ำหวาน ถ้วยเกสร และกลุ่มของไขในระยะต่าง ๆ เพิ่มขึ้นมากกว่ารังที่ไม่ได้รับอาหารเสริมเมื่อทำการเก็บเกี่ยวน้ำผึ้ง พบว่ารังที่ได้รับอาหารเสริมสามารถผลิตน้ำผึ้งได้เฉลี่ย 133.61 - 136.57 กรัมต่อรัง ซึ่งสูงกว่ารังที่ไม่ได้รับอาหารเสริมซึ่งให้ผลผลิตเพียง 48.86 - 69.47 กรัมต่อรัง หรือเพิ่มขึ้นถึง 1.96 - 2.73 เท่า นอกจากนี้ การเสริมอาหารยังช่วยลดความเสี่ยงของการล่มสลายของรังที่อาจเกิดจากภาวะขาดแคลนอาหาร การเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำผึ้งชันโรงนี้ สันนิษฐานว่าเกิดจากผลของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ ในอาหารเสริม ซึ่งช่วยส่งเสริมให้ นางพญาวางไข่ได้มากขึ้น ทำให้ประชากรชันโรงงานเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สามารถรวบรวมน้ำหวานจากดอกไม้ในธรรมชาติได้มากขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับอาหารเสริมซึ่งมีอัตราการเพิ่มของประชากรเพียงเล็กน้อยโดยสรุป การให้อาหารเสริมที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ในการเพาะเลี้ยงชันโรงขนเงินในระดับภาคสนาม ไม่เพียงแต่ช่วยเพิ่มจำนวนประชากรและโครงสร้างภายในรังเท่านั้น แต่ยังช่วยให้รังสามารถผลิตน้ำผึ้งได้มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ส่งผลให้การเพาะเลี้ยงมีประสิทธิภาพสูงขึ้นและลดอัตราการล่มสลายของรังจากปัจจัยด้านอาหาร และพบว่า การที่น้ำผึ้งชันโรงมีปริมาณเพิ่มขึ้น เนื่องจากอาหารเสริมชันโรงที่มีส่วนประกอบของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ ส่งผลให้นางพญาวางไข่ได้มากขึ้นจึงทำให้มีประชากรของชันโรงงานเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้น้ำหวานจากดอกไม้ที่ชันโรงงานเก็บมาจากสิ่งแวดล้อมได้ปริมาณเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับอาหารเสริมซึ่งมีประชากรเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย

นอกจากนี้การให้อาหารเสริมในการเลี้ยงชันโรงยังช่วยเพิ่มปริมาณน้ำตาลทรีฮาโลสซึ่งเป็นน้ำตาลที่พบในน้ำผึ้งชันโรง มีสมบัติในการต้านจุลินทรีย์และช่วยให้น้ำผึ้งชันโรงมีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำ (Low Glycemic Index honey) ไม่ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดพุ่งสูงขึ้นอย่างรวดเร็วเหมือนน้ำผึ้งปกติและการให้อาหารเสริมที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพและความปลอดภัยของน้ำผึ้งชันโรง

5.3 ผลการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของน้ำผึ้งชันโรง

จากการศึกษาสมบัติทางกายภาพของน้ำผึ้งชันโรง พบว่า น้ำผึ้งจากรังที่ได้รับอาหารเสริมสูตร A2 และ น้ำผึ้งจากรังควบคุมที่ไม่ได้รับอาหารเสริม มีค่าคุณลักษณะทางกายภาพที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มกช. 8005-2567) เมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำผึ้งชันโรงจาก พื้นที่เลี้ยงชันโรงในจังหวัดระยองและสมุทรปราการ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่า การใช้อาหารเสริมสูตร A2 ไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพทางกายภาพของน้ำผึ้งชันโรง ดังนั้น สามารถสรุปได้ว่า การให้อาหารเสริมสูตร A2 ในการเลี้ยงชันโรงชนเงินไม่มีผลกระทบต่อสมบัติทางกายภาพของน้ำผึ้งที่ผลิตได้

5.4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัยของน้ำผึ้งชันโรง

การวิเคราะห์คุณภาพและความปลอดภัยของน้ำผึ้งชันโรง ซึ่งรวมถึงปริมาณโลหะหนัก สารเคมีตกค้าง และด้านจุลชีววิทยา พบว่า น้ำผึ้งชันโรงที่ผลิตจากการให้อาหารเสริมอยู่ในเกณฑ์ปกติ โดยไม่มีการปนเปื้อนของโลหะหนัก สารพิษตกค้าง หรือสารปนเปื้อน อย่างไรก็ตาม ในด้านจุลชีววิทยาพบว่า น้ำผึ้งชันโรงจากการเลี้ยงแบบธรรมชาติและการให้อาหารเสริมมีปริมาณยีสต์และราเกินกว่ามาตรฐานที่กำหนดซึ่งเป็นลักษณะปกติของน้ำผึ้งชันโรง เนื่องจากภายในน้ำผึ้งมีจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่เป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะยีสต์ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์เฉพาะถิ่นที่มาจากเกสรและน้ำหวานของดอกไม้ที่ชันโรงเก็บมานอกจากนี้ ชันโรงไม่มีพฤติกรรมกระพือปีกเพื่อไล่ความชื้นเหมือนผึ้งน้ำผึ้ง ส่งผลให้น้ำผึ้งที่ผลิตออกมามีความชื้นสูง ซึ่งเอื้อต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว เกษตรกรผู้เลี้ยงชันโรงจึงทราบว่า น้ำผึ้งสดมักมีจุลินทรีย์ในปริมาณสูง ซึ่งอาจก่อให้เกิดการหมักและเกิดแก๊ส ดังนั้น จึงไม่นิยมจำหน่ายในรูปแบบน้ำผึ้งสด แต่จะนำไปผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพ เช่น การอบเพื่อลดความชื้น หรือการบ่ม เพื่อควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ให้อยู่ในระดับมาตรฐาน ผลการทดสอบยังระบุว่า ปริมาณจุลินทรีย์และปริมาณโลหะหนักในน้ำผึ้งชันโรงจากทั้งสองรูปแบบการเลี้ยง (ธรรมชาติและให้อาหารเสริม) ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น จึงสามารถสรุปได้ว่า การใช้อาหารเสริมไม่ได้ส่งผลกระทบต่อคุณภาพหรือความปลอดภัยของน้ำผึ้งชันโรงที่ผลิตได้

5.5 ผลการวิเคราะห์สมบัติในการยับยั้งจุลชีพและสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งชันโรง

จากการศึกษาสมบัติในการยับยั้งจุลชีพและสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งชันโรงชนเงิน พบว่า น้ำผึ้งที่ได้จากการให้อาหารเสริม และ น้ำผึ้งจากการเลี้ยงแบบธรรมชาติ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในด้านคุณภาพ สำหรับผลการทดสอบการยับยั้งจุลชีพของน้ำผึ้งชันโรงชน

เงินจาก จังหวัดระยอง สมุทรปราการ และขอนแก่น พบว่า น้ำฝั้จจากทั้งสามแหล่งสามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*), *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) และ *Candida albicans* (*C. albicans*) ได้ในระดับที่ใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่า การให้อาหารเสริมไม่มีผลกระทบต่อฤทธิ์ในการต้านจุลชีพของน้ำฝั้จชั้นโรง

ในด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า น้ำฝั้จชั้นโรงชนเงินจากพื้นที่ จังหวัดระยองและสมุทรปราการ มีค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน โดยการวัดด้วยวิธี DPPH พบว่าค่า % การยับยั้งอยู่ในช่วง $7.12 \pm 0.22 - 24.97 \pm 1.90$ และเมื่อวัดด้วยวิธี ABTS ค่า % การยับยั้งอยู่ในช่วง $8.08 \pm 1.17 - 58.06 \pm 1.10$ ที่ความเข้มข้นน้ำฝั้จ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า ความแตกต่างของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระระหว่างแต่ละพื้นที่ อาจเกิดจาก องค์ประกอบทางพฤกษเคมี หรือชนิดของอาหารที่ชั้นโรงนำมาจากธรรมชาติในแต่ละพื้นที่ ซึ่งมีความหลากหลายแตกต่างกัน

5.6 ผลการวิเคราะห์ต้นทุนของอาหารเสริม

การประเมินต้นทุนการเพาะเลี้ยงชั้นโรงด้วยอาหารเสริม โดยใช้อาหารเสริมสูตร A2 ในพื้นที่ จังหวัดระยอง สมุทรปราการ และขอนแก่น เป็นระยะเวลา 1 เดือน เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับอาหารเสริม โดยให้อาหารเสริมในปริมาณ 20 กรัมต่อรังต่อเดือน เมื่อคำนวณต้นทุนของอาหารเสริมสูตร A2 จากปริมาณการใช้จริง พบว่ามีต้นทุนเฉลี่ยเพียง 3.90 บาทต่อรังต่อเดือน ในขณะที่อาหารเลี้ยงฝั้จทางการค้าซึ่งมีราคาจำหน่าย 370 บาทต่อกิโลกรัม มีต้นทุนการใชงานจริงประมาณ 7.40 บาทต่อรังต่อเดือน ดังนั้น อาหารเสริมสูตร A2 ที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้จึงสามารถลดต้นทุนการเลี้ยงชั้นโรงได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อเทียบกับอาหารเลี้ยงฝั้จที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

5.7 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า อาหารเสริมสำหรับการเลี้ยงชั้นโรงชนเงินสูตร A2 ซึ่งประกอบด้วย เกสรฝั้จ น้ำตาลซูโครส และกากถั่วเหลือง ที่ผสมกับ จุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ ได้แก่ *Starmarella* sp. CMU Y-15, *Zygosaccharomyces* sp. CMU และ *Lactobacillus johnsonii* TSU-11 มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและสุขภาพของรังชั้นโรงชนเงินอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะในช่วงที่มีการขาดแคลนอาหารธรรมชาติอันเนื่องมาจากสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลง

อาหารเสริมสูตรนี้มีโปรตีนสูงถึง ร้อยละ 41.22 ส่งผลให้ ขนาดของต่อม Hypopharyngeal glands (HPGs) ซึ่งเป็นต่อมที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์และสารอาหารภายในรัง มีขนาดใหญ่ขึ้น

กว่า ชุดควบคุมถึง 1.82 เท่า ข้อมูลนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ (Vanessa et al. 2019) และ (Straub et al. 2024) ที่ชี้ว่าโปรตีนในอาหารมีบทบาทในการพัฒนาขนาดของต่อม HPGs ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของชั้นรังไข่ในหลายด้าน ทั้งการผลิตเอนไซม์ การหาอาหาร และการเลี้ยงตัวอ่อน

เมื่อพิจารณา สมบัติทางกายภาพของน้ำผึ้ง ที่ได้จากชั้นรังไข่ในกลุ่มทดลอง พบว่า น้ำผึ้งยังคงอยู่ใน เกณฑ์มาตรฐาน มกษ. 8005-2567 และไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมในเชิงสถิติ ทั้งในพื้นที่จังหวัดระยองและสมุทรปราการ

ในด้านของ คุณสมบัติในการยับยั้งจุลชีพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า น้ำผึ้งจากรังไข่ที่ได้รับอาหารเสริมสามารถ ยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *MRSA* และ *Candida albicans* ได้ไม่แตกต่างจากน้ำผึ้งที่ได้จากรังไข่ในระบบธรรมชาติอย่างมีนัยสำคัญ โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ในช่วง $7.12 \pm 0.22 - 24.97 \pm 1.90\%$ และ ABTS อยู่ในช่วง $8.08 \pm 1.17 - 58.06 \pm 1.10\%$ ที่ความเข้มข้น 50 mg/mL แสดงให้เห็นว่าอาหารเสริมไม่ได้ลดทอนคุณภาพทางชีวภาพของน้ำผึ้ง

น้ำผึ้งที่ผลิตจากรังไข่ที่ได้รับอาหารเสริมยังพบว่ามีปริมาณของ น้ำตาลทรีฮาโลส (Trehalulose) สูงขึ้น ซึ่งเป็นน้ำตาลพิเศษที่ได้จากการเปลี่ยนซูโครสด้วยเอนไซม์จากต่อม HPGs น้ำตาลชนิดนี้มีสมบัติต้านจุลินทรีย์และมีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำ (Low Glycemic Index) จึงเหมาะแก่ผู้บริโภคที่ต้องควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ทั้งนี้ สอดคล้องกับงานของ (Zhang et al. 2022) ที่พบว่า ปริมาณของ Trehalulose มีความสัมพันธ์กับระดับของเอนไซม์ Trehalulose synthase ซึ่งสูงขึ้นเมื่อมีการให้อาหารที่มีโปรตีนสูง

ในแง่ของ ต้นทุนการผลิต การใช้อาหารเสริมสูตร A2 มี ต้นทุนเพียง 3.90 บาทต่อรังต่อเดือน ซึ่งต่ำกว่าการใช้อาหารผึ้งเชิงพาณิชย์ที่มีต้นทุน 7.40 บาทต่อรังต่อเดือน แสดงให้เห็นว่า อาหารเสริมสูตรนี้ไม่เพียงแต่ช่วยเพิ่มผลผลิตเท่านั้น แต่ยังช่วย ลดต้นทุนในการเลี้ยงชันโรง ได้อีกด้วย

กล่าวโดยสรุป อาหารเสริมสูตร A2 ถือเป็นทางเลือกที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงชันโรงขึ้นเงิน ทั้งในแง่ของการเพิ่มปริมาณผลผลิต เพิ่มประสิทธิภาพของชันโรง รักษาคุณภาพน้ำผึ้ง และลดต้นทุนอย่างยั่งยืน ที่สำคัญคือ ไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพ ความปลอดภัย หรือสมบัติทางชีวภาพของน้ำผึ้งชันโรง จึงสามารถนำไปใช้ในระดับเกษตรกรหรือเชิงพาณิชย์ได้อย่างมั่นใจ อย่างไรก็ตาม การเพิ่มความหลากหลายของพืชอาหารในธรรมชาติยังคงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่จะช่วยส่งเสริมการเลี้ยงชันโรงในระยะยาวให้มีความมั่นคงและยั่งยืนมากยิ่งขึ้น

5.8 ข้อเสนอแนะ

ถึงแม้ในงานวิจัยนี้อาหารเสริมสำหรับชันโรงสามารถช่วยในเรื่องของสุขภาพรังชันโรงให้ดีขึ้น มีการหาอาหารที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น รวมถึงการสร้างถ้วยน้ำผึ้ง ถ้วยเกสร และจำนวนไข่อ่อนกับไข

แก่ภายในรังเพิ่มขึ้น อีกทั้งยังส่งผลให้ปริมาณน้ำผึ้งที่ผลิตได้สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชันโรงที่ไม่ได้รับอาหารเสริม แต่ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของการให้ชันโรงได้รับอาหารเสริมในระยะยาวว่ามีผลอย่างไรต่อพฤติกรรมของชันโรง



บรรณานุกรม



อัญชลี สวสดีธรรม. (2556). มหัศจรรย์ชันโรง. พิมพ์ครั้งที่ 1. ทริปเพิ้ล กรุ๊ป จำกัด.

อัศলেখ รัตนวรรณ. (2022). ชันโรง: ชีววิทยา ความหลากหลาย และการเลี้ยง.

ธีรพงษ์ อาจภักดี, & อัญชลี สวสดีธรรม. (2564). ประสิทธิภาพการใช้ชันโรงขนเงิน (Tetragonula pagdeni Schwarz) ในการผสมเกสรแมลงอ่อนในสภาพโรงเรือน. เกษตร, 49 (ฉบับที่ 3), 701-710.

ดาวรุ่ง ศิลาอ่อน และฉานิกา จันทสระ. (2557). ผลของการใช้กากถั่วเหลืองหมักในสูตรอาหารต่อการย่อยได้ของโภชนะ ในลูกสุกรหยานม Effect of using fermented soybean meal in diet on nutrients digestibility in weaning pigs.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2558). กากถั่วเหลือง SOYBEAN MEAL.

รมณี สงวนดีกุล. (2555). ผลกระทบจากผึ้ง. ใน สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ และสุริรัตน์ เดียววานิชย์ (น.295-297). ชีววิทยาของผึ้ง. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พิชญาดา เจริญจิต. (2562). ชันโรง หรือผึ้งจิ๋ว สุดยอดแมลงผสมเกสรพืช. [ออนไลน์], สืบค้นจาก https://www.technologychaoban.com/agricultural-technology/article_71992 (15 สิงหาคม 2566).

กรมส่งเสริมการเกษตร. (2564). กลุ่มส่งเสริมแมลงเศรษฐกิจ ชันโรง. [ออนไลน์], สืบค้นจาก <http://www.agriman.doae.go.th/home/news/2565/51stinglessbee.pdf> (18 สิงหาคม 2566)

Cerqueira, A. E. S., Hammer, T. J., Moran, N. A., Santana, W. C., Kasuya, M. C. M., & da Silva, C. C. (2021). Extinction of anciently associated gut bacterial symbionts in a clade of stingless bees. *The ISME Journal*, 15(9), 2813–2816. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01000-1>

de Paula, G. T., Menezes, C., Pupo, M. T., & Rosa, C. A. (2021). Stingless bees and microbial interactions. *Current Opinion in Insect Science*, 44, 41–47.

<https://doi.org/10.1016/j.cois.2020.11.006>

Giannini, T. C., Maia-Silva, C., Acosta, A. L., Jaffé, R., Carvalho, A. T., Martins, C. F., ... & Imperatriz-Fonseca, V. L. (2017). Protecting a managed bee pollinator against climate change: Strategies for an area with extreme climatic conditions and socioeconomic vulnerability. *Apidologie*, 48, 784–794.

Hrncir, M., Maia-Silva, C., da Silva Teixeira-Souza, V. H., et al. (2019). Stingless bees and their adaptations to extreme environments. *Journal of Comparative Physiology A*, 205, 415–426. <https://doi.org/10.1007/s00359-019-01327-3>

Jehlík, T., Kodrík, D., Křišťufek, V., Koubová, J., Sáblová, M., Danihlík, J. & Čapková Frydrychová, R. (2019). Effects of *Chlorella* sp. on biological characteristics of the honey bee *Apis mellifera*. *Apidologie*, 50, 564–577. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00670-3>

Lima, M. A. P., Cutler, G. C., Mazzeo, G., & Hrncir, M. (2022). Editorial: The decline of wild bees: Causes and consequences. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, Article 1027169. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.1027169>

Michener, C. D., & Boongird, S. (2004). A new species of *Trigona* from Peninsular Thailand (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 77(2), 143–146. <https://doi.org/10.2317/0310.08.1>

Oldroyd, B.P., & Aanen, D.K. (2015). Entomology: A bee farming a fungus. *Current Biology*, 25(22), R1072–R1074. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.09.009>

Queiroz, A. C. M., Leão, K. L., Contrera, F. A. L., Teixeira, J. C., & Menezes, C. (2019).

Stingless bees fed on fermented soybean-extract-based diet had reduced lifespan than pollen-fed workers. *Sociobiology*, 66(1), 107-112.

Rattanawanee, A., & Duangphakdee, O. (2020). Southeast Asian Meliponiculture. In *Modern Beekeeping: Bases for Sustainable Production* (p. 173).

Rodríguez-Hernández, D., Melo, W. G. P., Menegatti, C., Lourenzon, V. B., do Nascimento, F. S., & Pupo, M. T. (2019). Actinobacteria associated with stingless bees biosynthesize bioactive polyketides against bacterial pathogens. *New Journal of Chemistry*, 43(25), 10222–10229.

<https://doi.org/10.1039/C9NJ01619H>

Rosa-Fontana, A. S., Dorigo, A. S., Malaquias, J. B., et al. (2022). Fungivorous mites enhance the survivorship and development of stingless bees even when exposed to pesticides. *Scientific Reports*, 12, Article 20948.

<https://doi.org/10.1038/s41598-022-25482-x>

Salazar-González, C., & Díaz-Moreno, C. (2016). The nutritional and bioactive aptitude of bee pollen for a solid-state fermentation process. *Journal of Apicultural Research*, 55(2), 161-175. <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1172381>

Sommeijer, M. J. (1999). Beekeeping with stingless bees: A new type of hive. *Bee World*, 80(2), 70–79. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1999.11099429>

Straub, L., Sittisorn, T., Butdee, J., Rueangwong, A., Camenzind, D., Promsart, W., & Maitip, J. (2024). Age-dependent hypopharyngeal gland size and protein content of stingless bee workers, *Tetragonula pagdeni*. *PLOS ONE*.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0308950>

- Trinkl, M., Kaluza, B. F., Wallace, H., Heard, T. A., Keller, A., & Leonhardt, S. D. (2020). Floral species richness correlates with changes in the nutritional quality of larval diets in a stingless bee. *Insects*, 11(2), 125.
- Vanessa Corby-Harris, & Lucy A. Snyder. (2018). Measuring hypopharyngeal gland acinus size in honey bee (*Apis mellifera*) workers. *Journal of Visualized Experiments*, 139, 58261. <https://doi.org/10.3791/58261>
- Williams, G. R., Alaux, C., Costa, C., Csáki, T., Doublet, V., Eisenhardt, D., ... Brodschneider, R. (2013). Standard methods for maintaining adult *Apis mellifera* in cages under in vitro laboratory conditions. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1–36. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.04>
- Winston, M. L., & Michener, C. D. (1977). Dual origin of highly social behavior among bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(3), 1135-1137. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.3.1135>
- Rattanawanee, A., & Duangphakdee, O. (2020). Southeast Asian Meliponiculture. In *Modern Beekeeping: Bases for Sustainable Production* (p. 173).
- Schwarz, H. F. (2020). *Stingless bees of Southeast Asia: An ecological approach*. National University Press.
- Queiroz, A. C. M., & Leão, K. L. (2022). Influence of diet on stingless bee colony health. *Beekeeping Science*, 45, 278–285.
- Parra, J. C., et al. (2016). Pollination of tropical crops by stingless bees. *Agricultural Ecosystems & Environment*, 219, 126-135.
- Souza, D. A., Santos, A. P., & Matos, V. G. (2019). Potential of stingless bees for the pollination of fruit crops in Brazil. *Brazilian Journal of Agricultural Sciences*, 10(2), 37-45.

Tomaszewska, M., et al. (2021). A comprehensive review on the stingless bee species of the Americas. *Bee Journal*, 102, 112-120.

Wilke, A. A., et al. (2020). Ecological significance of stingless bees as pollinators in rainforests. *Journal of Tropical Ecology*, 36(5), 367-378.



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นาย ธนาธิป สิริธิศร
ชื่อวิทยานิพนธ์ การพัฒนาอาหารเสริมสำเร็จรูปสำหรับชั้นโรงخنเงิน
สาขาวิชา กระบวนการอุตสาหกรรมเคมีและสิ่งแวดล้อม
ประวัติ ชื่อ : นายธนาธิป สิริธิศร
วัน เดือน ปีเกิด : 17 สิงหาคม 2542
สถานที่เกิด : พิษณุโลก
ที่อยู่ติดต่อได้สะดวก : บ้านเลขที่ 75/17 ซ.กลางคลอง ม.12 ต.หัว
รอ อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000
โทรศัพท์ : 0821067643
การศึกษา : ปริญญาโท
ระดับการศึกษา สถานที่ศึกษา
เดือน /ปีที่สำเร็จ
การศึกษา
มัธยมศึกษาตอนต้น : โรงเรียนจ่านกร้อง
2557
มัธยมศึกษาตอนปลาย : โรงเรียนจ่านกร้อง
2560
ปริญญาตรี : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอม
เกล้าพระนครเหนือ วิทยาเขตระยอง 2564

ภาคผนวก

1. การเตรียมอาหารเสริม

1.1 อาหารสูตรที่เสริมด้วยโปรตีนจากถั่วเหลือง (A1)

เตรียมเกสร 30 กรัม กากถั่วเหลือง 30 กรัม ยีสต์สกัดเกรดอาหารสัตว์ 3 กรัม น้ำกลั่น 15 กรัม และ น้ำตาลซูโครส 15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องปั่น แสดงดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 (ก) ส่วนประกอบอาหารสูตรที่เสริมด้วยโปรตีนจากถั่วเหลือง (A1)



(ข) อาหารสูตรที่เสริมด้วยโปรตีนจากถั่วเหลือง (A1)

1.2 อาหารสูตรที่เสริมด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก (A2)

เตรียมเกสร 30 กรัม กากถั่วเหลือง 30 กรัม น้ำกลั่น 22 มิลลิลิตร น้ำตาลซูโครส 15 มิลลิลิตร และ จุลินทรีย์โพรไบโอติก ได้แก่ *Lactobacillus johnsonii* TSU-11 *Starmerella* sp. CMU-Y15 และ *Zygosaccharomyces* sp ร้อยละ 3 นำส่วนผสมทุกอย่างผสมให้เข้ากัน แสดงดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 (ก) ส่วนประกอบอาหารสูตรที่เสริมด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก (A2)



(ข) อาหารสูตรที่เสริมด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก (A2)

1.3 อาหารสูตรสารสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก (A3)

เตรียมเกสร 30 กรัม โปรตีนถั่วเหลืองสกัด 30 กรัม น้ำกลั่น 22 มิลลิลิตร น้ำตาลซูโครส 15 มิลลิลิตร และ จุลินทรีย์โพรไบโอติก ได้แก่ *Lactobacillus johnsonii* TSU-11 *Starmerella* sp. CMU-Y15 และ *Zygosaccharomyces* sp ร้อยละ 3 นำส่วนผสมทุกอย่างผสมให้เข้ากัน แสดงดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 (ก) ส่วนประกอบอาหารสูตรสารสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก (A3)



(ข) อาหารสูตรสารสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก (A3)

2.การเตรียมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ในเอทานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (M.W. = 394.33)

$$\begin{aligned}\text{จากสูตร } g/M.W. &= CV/1000 \text{ g} \\ &= (0.2 \times 10^{-3} \times 100 \times 394.33) / 1000 \text{ g} \\ &= 0.0079 \text{ g หรือ 7.9 มิลลิกรัม}\end{aligned}$$

ซึ่ง DPPH 0.079 กรัม ละลายใน 95 % เอทานอล 50 มิลลิลิตรเข้าให้ละลายอย่างสมบูรณ์ เก็บในที่มืด และควรเตรียมใหม่ทุกวัน

3. การเตรียมสารละลาย 7 mM ABTS

$$\begin{aligned}\text{จากสูตร } g/M.W. &= CV/1000 \text{ g} \\ &= (7 \times 10^{-3} \times 20 \times 514.62) / 1000 \text{ g} \\ &= 0.0720 \text{ g หรือ 7.2 มิลลิกรัม}\end{aligned}$$

ซึ่ง ABTS 0.0720 g ละลายในน้ำกลั่น 20 mL

4.เตรียม 2.45 mM Potassium persulfate ($K_2S_2O_8$)

$$\begin{aligned}\text{จากสูตร } g/M.W. &= CV/1000 \text{ g} \\ &= (2.45 \times 10^{-3} \times 50 \times 270.332) / 1000 \text{ g} \\ &= 0.0331 \text{ กรัม หรือ 3.31 มิลลิกรัม}\end{aligned}$$

ซึ่ง $K_2S_2O_8$ 0.0331 ละลายในน้ำกลั่น 50 mL เตรียม Stock ABTS radical cation โดยผสมสารละลาย 7 mM ABTS ปริมาตร 14 mL กับสารละลาย 2.45 mM Potassium persulfate 21 mL ในขวดสีชา ตั้งไว้ในที่มืด 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำมาใช้เจือจาง Stock ABTS radical cation ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ได้ค่า OD 750 nm เท่ากับ 0.700 ± 0.1 (ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้งาน)

5.เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

5.1. Nutrient Broth Agar (NA)

ปริมาณอาหารผงที่ใช้: ประมาณ 28 g ของ Nutrient Broth Agar (NA) (ปริมาณที่แนะนำจากผู้ผลิต HiMedia™)

เติมน้ำบริสุทธิ์ 1000 mL ลงในสารละลาย

ผสมให้เข้ากันและนำไปอุ่นให้สารละลายละลายอย่างสมบูรณ์

หลังจากนั้น นำไปฆ่าเชื้อในหม้ออบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15-20 นาที

5.2. Yeast Malt Broth (YMA)

ปริมาณอาหารผงที่ใช้: ประมาณ 25 g ของ Yeast Malt Broth (YMA) (ตามที่ระบุจากผู้ผลิต HiMedia™)

เติมน้ำบริสุทธิ์ 1000 mL ลงในสารละลาย

ผสมให้เข้ากันและอุ่นให้สารละลายละลาย

นำไปฆ่าเชื้อในหม้ออบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15-20 นาที

3. Mueller Hinton Broth (MHA)

ปริมาณอาหารผงที่ใช้: ประมาณ 13 g ของ Mueller Hinton Broth (MHA) (ตามที่ระบุจากผู้ผลิต HiMedia™)

เติมน้ำบริสุทธิ์ 1000 mL ลงในสารละลาย

ผสมให้เข้ากันและอุ่นให้สารละลายละลาย

นำไปฆ่าเชื้อในหม้ออบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15-20 น

6.การวิเคราะห์ทางสถิติ

6.1 การวิเคราะห์ทางสถิติของการยับยั้งจุลชีพในน้ำผึ้งชันโรง

AntibacEcoli

			Subset for alpha = 0.05		
	sample	N	1	2	3
Tukey HSD ^a	BS	3	7.1667		
	BC	3	8.7000		
	KH	3		13.6167	
	KS	3		14.0333	
	KC	3			18.1833
	Sig.		.710	.996	1.000

รูปที่ 4 สถิติการยับยั้งจุลชีพในน้ำฝิ่งชั้นโรงของเชื้อ *E.coli*

AntibacMRSA

Tukey HSD^a

sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
BS	3	6.4167	
BC	3	6.4667	
KS	3	6.8833	
KC	3	6.8833	
KH	3		12.7333
Sig.		.993	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

รูปที่ 5 สถิติการยับยั้งจุลชีพในน้ำฝิ่งชั้นโรงของเชื้อ *MRSA*

Antibacalbicans

Tukey HSD^a

sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
KS	3	5.6333
KH	3	5.8167
KC	3	5.9167
BC	3	5.9667
BS	3	6.0500
Sig.		.463

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

รูปที่ 6 สถิติการยับยั้งจุลชีพในน้ำฝิ่งชั้นโรงของเชื้อ *C.albicans*

6.2 การวิเคราะห์ทางสถิติของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งชันโรง

ABTShoney

Tukey HSD^a

sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
KC	3	8.0900			
KS	3		13.0400		
KH	3		14.0933		
BS	3			35.6733	
BC	3				58.0767
Sig.		1.000	.483	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

รูปที่ 7 สถิติของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งชันโรงด้วยวิธี ABTS assay

DPPHhoney

Tukey HSD^a

sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
KC	3	4.3300			
KH	3		7.1500		
KS	3		7.1833		
BS	3			17.7433	
BC	3				24.9700
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

รูปที่ 8 สถิติของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งชันโรงด้วยวิธี DPPH assay

6.3 การวิเคราะห์ทางสถิติสมบัติทางกายภาพในน้ำผึ้งชันโรง

moistureTukey HSD^a

sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
BS	3	.4483
KS	3	.4557
KC	3	.4567
BC	3	.4607
KH	3	.4633
Sig.		.529

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean
Sample Size = 3.000.

รูปที่ 9 สถิติของค่าความชื้นในน้ำฝังชั้นโรง

colorTukey HSD^a

sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
KH	3	25.5500			
KS	3		46.8433		
KC	3		47.4633		
BS	3			106.6400	
BC	3				125.9500
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

รูปที่ 10 สถิติของค่าสีในน้ำฝังชั้นโรง

brixTukey HSD^a

sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
KC	3	76.2667		
KS	3		80.9333	
KH	3		81.6000	
BS	3			88.5333
BC	3			90.9333
Sig.		1.000	.911	.074

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

รูปที่ 11 สถิติของค่าของแข็งละลายในน้ำฝั งชั้นโรง

pHTukey HSD^a

sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
KH	3	3.3233				
KS	3		3.4200			
KC	3			3.5067		
BS	3				3.8400	
BC	3					4.1567
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

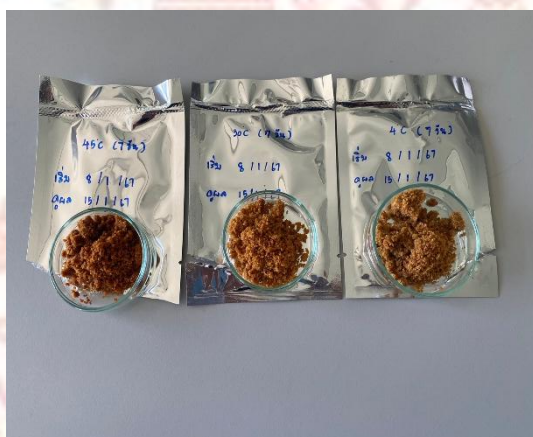
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

รูปที่ 12 สถิติของค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำฝั งชั้นโรง

7 ภาพประกอบการทำวิจัย



การเลี้ยงชันโรงในห้องปฏิบัติการ



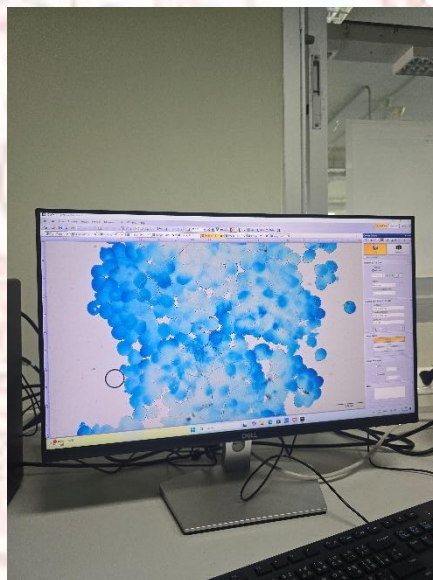
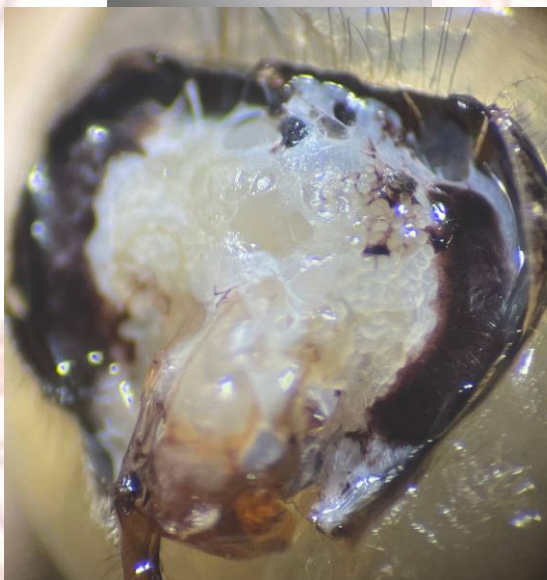
อาหารเสริมสำหรับชันโรงทั้ง 3 สูตร



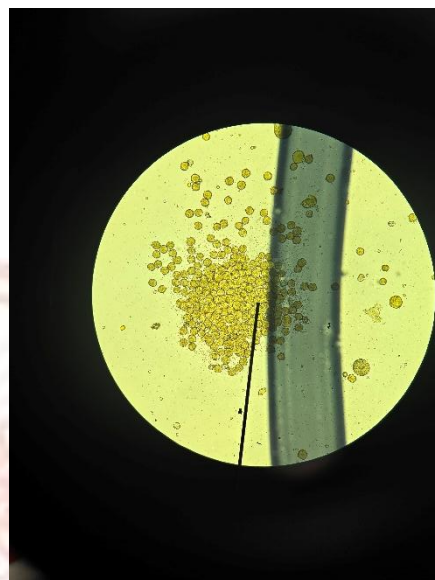
การให้อาหารเสริมสูตร A2 ในระดับภาคสนาม



การเตรียมอาหารเสริมสำหรับชันโรง



การวัดขนาดของต่อมไฮโปฟาริงจ์



การวิเคราะห์ทางเรณูวิทยาในน้ำฝิ่งชั้นโรง

