รายงานวิจัย
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2555

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

ความหลากหลายของผึ้งและชันโรง และการนำมาใช้ประโยชน์ของโพรพอลิส จากรังผึ้งและชันโรงในพื้นที่ อพ.สธ.

Diversity of honey bee and stingless bee and utilization of propolis from their nests in the RSPG area

ผศ.ดร. สุรีรัตน์ เดี่ยววาณิชย์
นางสาวชญานี อ๊อดทรัพย์
นางสาวธัญลักษณ์ ตะโกดี
นางสาวหนึ่งฤทัย วิชัยกุล
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานวิจัย
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2555

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง

ความหลากหลายของผึ้งและชันโรง และการนำมาใช้ประโยชน์ของโพรพอลิส จากรังผึ้งและชันโรงในพื้นที่ อพ.สธ.

Diversity of honey bee and stingless bee and utilization of propolis from their nests in the RSPG area

ผศ.ดร. สุรีรัตน์ เดี่ยววาณิชย์
นางสาวชญานี อ๊อดทรัพย์
นางสาวธัญลักษณ์ ตะโกดี
นางสาวหนึ่งฤทัย วิชัยกุล
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2555 คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี และ เจ้าหน้าที่ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านกีฏวิทยา ชีววิทยาของผึ้ง ความหลากหลายทางชีวภาพของแมลงและไร ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อราก่อโรคในคนและห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณอาสาสมัครนำทางทุกท่าน และผู้ร่วมงานทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานภาคสนามและในห้องปฏิบัติการมาเป็นอย่างดี

บทคัดย่อ

โพรพอลิส (propolis) เป็นสารผสมที่มีลักษณะเป็นยางเหนียว ได้มาจากยางไม้ที่ผึ้งงานรวบรวมมาเพื่อใช้ป้องกันศัตรูพืชและเชื้อโรคภายในรัง การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากโพรพอลิสของชันโรง 2 ชนิด คือ *Tetrigona apicalis* และ *Trigona thoracica* จากจังหวัดกาญจนบุรี ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคผิวหนังในคน 4 ชนิด คือ *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* และ *Microsporum gypseum* โดยสกัดโพรพอลิสด้วยน้ำกลั่นและ 95%, 70%, 40% และ 5% เอธิลแอลกอฮอล์ โดยสารสกัดหยาบจากโพรพอลิสของ *Trigona thoracica* คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ยีลด์ (percent yield) ได้ 47.45%, 55.12%, 6.00% และ 2.33% ตามลำดับ สำหรับโพรพอลิสที่สกัดด้วยน้ำกลั่นมีเชื้อราเกิดขึ้นจึงไม่นำมาทำการทดลองต่อ ส่วนสารสกัดจากโพรพอลิสของ *Tetrigona apicalis* ที่สกัดด้วย 95%, 70%, 40% และ 5% เอธิลแอลกอฮอล์ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ยีลด์ได้ 43.67%, 22.93%, 1.08% และ 3.08% ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดโพรพอลิสที่ได้ไปละลายใน 1% Dimethylsulfoxide (DMSO) และ acetone (ในกรณีที่ไม่ละลายใน 1% DMSO) แล้วนำไปผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 64 mg/ml. และใช้ 1% DMSO และ acetone ผสมในอาหารเป็นชุดควบคุมในการเลี้ยงเชื้อ สำหรับผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราพบว่าสารสกัดจากรัง *T. thoracica* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ทุกชนิด ส่วนสารสกัดจากรัง *T. apicalis* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ทุกชนิดยกเว้น *T. mentagrophytes* โดยที่ผลการยับยั้งเชื้อราของโพรพอลิสทั้ง 2 ชนิด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คำสำคัญ: โพรพอลิส, เชื้อราก่อโรคผิวหนังในคน

Abstract

Propolis is a resinous substance collected by honey bees from plants. It is used for colony protection from enemies and diseases. The aim of this study was to determine the antifungal activities of propolis extract from stingless bee (*Tetrigona apicalis* and *Trigona thoracica*) colonies on 4 kinds of cutaneous mycoses in human (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* and *Microsporum gypseum*). Propolis samples were collected from Kanchanaburi and extracted with distilled water and 95%, 70%, 40% and 5% ethyl alcohol. The percent yield of ethanol crude extract from *Trigona thoracica* were 47.45%, 55.12%, 6.00% and 2.33%, respectively. Yield of 95%, 70%, 40% and 5% etanol extracts from *Tetrigona apicalis* were 43.67%, 22.93%, 1.08% and 3.08% respectively. Then 64 mg/ml concentration of propolis extract was diluted with 1% DMSO and acetone (in case it could not dissolve in 1% DMSO) and mixed with PDA media. PDA mixed with 1% DMSO and acetone were used as a control group. The antifungal activities of propolis extract from *T. apicalis* can inhibit the growth of all cutaneous mycoses in human as same as *T. thoracica* but except in *T. mentagrophytes*. The antifungal activities of 2 kinds of propolis extract not significantly different statistically.

Keywords: Propolis, Cutaneous mycoses in human

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
วิธีดำเนินการศึกษา	3
ผลการศึกษา	7
สรุปและวิจารณ์ผล	16
เอกสารอ้างอิง	18
ประวัตินักวิจัยและคณะ	20

เลขหมู่
เลขทะเบียน 015883
วัน, เดือน, ปี 15 พ.ค. 56

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	แสดงเปอร์เซ็นต์ยีลด์ของสารสกัดหยาบโพรพอลิสจาก *T. apicalis*	7
ตารางที่ 2	แสดงเปอร์เซ็นต์ยีลด์ของสารสกัดหยาบโพรพอลิสจาก *T. thoracica*	7
ตารางที่ 3	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราในจานเพาะเชื้อที่ผสมสารสกัดโพรพอลิส *T. apicalis*	8
ตารางที่ 4	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราในจานเพาะเชื้อที่ผสมสารสกัดโพรพอลิส *T. thoracica*	8
ตารางที่ 5	แสดงผลการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางการเจริญของเชื้อราในกลุ่มควบคุม	9
ตารางที่ 6	แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา *T. rubrum* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	9
ตารางที่ 7	แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา *T. rubrum* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	10
ตารางที่ 8	แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา *T. mentagrophytes* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	10
ตารางที่ 9	แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา *T. mentagrophytes* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	11
ตารางที่ 10	แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา *M. canis* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	12
ตารางที่ 11	แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา *M. canis* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	12
ตารางที่ 12	แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติของเชื้อรา *M. gypseum* ด้วยวิธี One – way ANOVA ที่ $P < 0.05$	13
ตารางที่ 13	แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติของเชื้อรา *M. gypseum* ด้วยวิธี One – way ANOVA ที่ $P < 0.05$	13

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	ปากทางเข้ารังชันโรงชนิด *T. apicalis*	4
ภาพที่ 2	ปากทางเข้ารังชันโรงชนิด *T. thoracica*	4
ภาพที่ 3	เชื้อราที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4 ชนิด ซึ่งเลี้ยงใน agar slant	5
ภาพที่ 4	แสดงการใช้ cork borer เจาะเส้นใยรา (ก.) และนำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการทดสอบ (ข.)	6
ภาพที่ 5	ผลการเจริญของเชื้อราของกลุ่มควบคุมที่ผสม 1% DMSOและ acetone (ก.) กลุ่มทดลอง (ข.)	6
ภาพที่ 6	ลักษณะของสารสกัดหยาบโพรพอลิสจาก *T. apicalis* (ก.) และ *T. thoracica* (ข.)	7
ภาพที่ 7	ลักษณะของสารสกัดโพรพอลิสเมื่อผ่านการกรองสูญญากาศแล้ว (จากซ้ายไปขวา น้ำกลั่น, 5%, 40%, 70% และ 95% ethyl alcohol	8

ความหลากหลายของผึ้งและชันโรง และการนำมาใช้ประโยชน์ของโพรพอลิส จากรังผึ้งและชันโรงในพื้นที่ อพ.สธ.

Diversity of honey bee and stingless bee and utilization of propolis from their nests in the RSPG area

สุรีรัตน์ เดี่ยววาณิชย์ ชญานี อ๊อดทรัพย์ ธัญลักษณ์ ตะโกดี และ หนึ่งฤทัย วิชัยกุล
Sureerat Deowanish Chayanee Ot-sup Thanyalak Thakodee and Nungruthai Wichaikul

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Phyathai Road, Pathumwan, Bangkok, 10330

บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผึ้ง (*Apis* spp.) และชันโรง (*Trigona* spp.) เป็นแมลงที่มีบทบาทสำคัญในการช่วยผสมเกสรให้แก่พืชดอก ก่อให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพของพืชดอกนานาชนิด นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ต่างๆที่ได้จากผึ้งและชันโรงยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น น้ำผึ้งมีการนำมาใช้ในการบริโภคและเป็นองค์ประกอบของยาพื้นบ้าน ชันหรือโพรพอลิส (propolis) ซึ่งได้จากการเก็บยางไม้ของผึ้งและชันโรงได้มีการนำมาใช้ยาเรือหรือภาชนะที่สานด้วยไม้ไผ่ จากการศึกษาที่ผ่านมามีรายงานว่า โพรพอลิสมีความสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หรือไล่แมลงอื่นๆ ได้ดี

ผึ้งและชันโรงสามารถพบได้หลายชนิดทั่วประเทศไทย ซึ่งองค์ประกอบของโพรพอลิสที่ผึ้งและชันโรงใช้สร้างรังมีการผันแปรตามชนิดของผึ้ง ชันโรงและชนิดของต้นไม้ในสภาพแหล่งที่อยู่อาศัยนั้น ๆ อย่างไรก็ดีที่ผ่านมาการศึกษาข้อมูลความหลากหลายของผึ้งและชันโรงในประเทศไทยมีรายงานการดำเนินการเฉพาะบางพื้นเท่านั้น ในอีกหลายพื้นที่ยังขาดข้อมูลการศึกษาทั้งระดับพื้นฐานและเชิงลึกในเรื่องความหลากหลายของชนิด และองค์ประกอบของโพรพอลิสที่ได้จากผึ้งและชันโรง ตลอดจนความสัมพันธ์ระหว่างชนิดและตำแหน่งการสร้างรังของผึ้งและชันโรงที่พบในแต่ละพื้นที่ ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญสามารถนำไปต่อยอดเพื่อการพัฒนาประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากผึ้งและชันโรง ให้เกิดประโยชน์ต่อชุมชนต่อไป

เอกสารที่เกี่ยวข้อง

ผึ้ง (honey bee) และชันโรง (stingless bee) เป็นแมลงสังคม (social insect) กลุ่มเดียวกัน มีคุณลักษณะต่าง ๆ ที่ค่อนข้างจะคล้ายกันมาก สิ่งที่แตกต่างกันชัดเจน คือ ผึ้งมีเหล็กในซึ่งเปลี่ยนแปลงมาจากอวัยวะวางไข่ของผึ้งเพศเมีย สำหรับใช้ต่อยป้องกันตัวได้ แต่ ชันโรงไม่สามารถต่อยได้ จึงใช้การกัดและปล่อยสารเหนียวออกมาใส่ศัตรู เพราะไม่มีเหล็กใน จึงมีชื่อสามัญว่า stingless bee ทั้งผึ้งและชันโรงสามารถผลิตน้ำผึ้งได้เช่นเดียวกัน ทั้งผึ้งและชันโรงเป็นแมลงที่พบได้ทั่วไปในประเทศไทย มีบทบาทสำคัญใน

การช่วยผสมเกสรให้แก่พืชดอก ก่อให้เกิดความหลากหลายทางชีวภาพของพืชดอกนานาชนิด นอกจากนี้ ผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่ได้จากผึ้งและชันโรงยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น น้ำผึ้งมีการนำมาใช้ในการบริโภคและเป็นองค์ประกอบของยาพื้นบ้าน ชันหรือโพรพอลิส (propolis) ซึ่งเป็นผลผลิตที่ผึ้งและชันโรงเก็บมาจากยางไม้ผสมกับไขผึ้งและสารอื่นๆ ได้นำมาใช้ยาเรือหรือภาชนะที่สานด้วยไม้ไผ่เพื่ออุดรูรั่ว จากการศึกษาที่ผ่านมามีรายงานว่าโพรพอลิส มีความสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หรือไล่แมลงอื่นๆ ได้ดี ซึ่งองค์ประกอบของโพรพอลิสที่ผึ้งและชันโรงใช้สร้างรังมีการผันแปรตามชนิดของผึ้งและชันโรง ตลอดจนชนิดของต้นไม้ในสภาพแหล่งที่อยู่อาศัยนั้น ๆ อย่างไรก็ดีข้อมูลการศึกษาความหลากหลายของผึ้งและชันโรงในประเทศไทยที่ผ่านมามีรายงานการดำเนินการเพียงเฉพาะบางพื้นเท่านั้น ในอีกหลายๆ พื้นที่ยังขาดข้อมูลการศึกษาทั้งระดับพื้นฐานและเชิงลึกในเรื่องความหลากหลายของชนิด ตำแหน่งการสร้างรัง และองค์ประกอบของพรอพอลิสที่ได้จากรังผึ้งและชันโรง ตลอดจนความสัมพันธ์ระหว่างชนิดและตำแหน่งการสร้างรังของผึ้งและชันโรงที่พบในแต่ละพื้นที่ ซึ่งข้อมูลพื้นฐานต่างๆ เกี่ยวกับผึ้งและชันโรงและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้จากผึ้งและชันโรงนี้ มีความสำคัญอย่างยิ่งทั้งในเชิงวิชาการและการนำไปต่อยอดเพื่อพัฒนาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อชุมชนและประเทศชาติต่อไป

โพรพอลิส (propolis) เป็นสารผสมที่มีลักษณะเป็นยางเหนียวข้น (resinous) ได้มาจากยางของเปลือกไม้ที่ผึ้งงานบินออกไปเก็บรวบรวมมา โดยเฉพาะยางที่อยู่บริเวณตาใบ (leaf buds) หรือยางที่ไหลออกมาจากส่วนต่างๆของต้นพืชโดยนำมาผสมกับไขผึ้งแล้วนำมาซ่อมแซมรัง อุดตามรอยรั่วและเคลือบสิ่งสกปรก เช่น ซากของศัตรูผึ้งขนาดใหญ่ที่ตายภายในรังไม่สามารถนำออกไปทิ้งนอกรังได้เพื่อเป็นการป้องกันการระบาดของเชื้อโรคภายในรัง[1]

ด้วยประโยชน์ของโพรพอลิสดังกล่าว ทำให้มีการศึกษาวิเคราะห์ส่วนประกอบต่างๆ ของโพรพอลิสในผึ้งกันอย่างกว้างขวาง ซึ่งผลจากการวิเคราะห์พบว่า โพรพอลิสประกอบด้วยส่วนผสมของยางไม้และ vegetable balsam ร้อยละ 50 ไขผึ้ง ร้อยละ 30 น้ำมันหอม ร้อยละ 10 เรณูดอกไม้ ร้อยละ 5 และส่วนประกอบอื่นๆ ร้อยละ 5[2,3] จากส่วนผสมดังกล่าวเมื่อพิจารณาในด้านสารประกอบทางเคมี พบว่ามีสารประกอบที่สำคัญคือ ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ที่มีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะ ซึ่งเป็นสารประกอบจากพืช ที่รู้จักกันดีว่ามีคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant)[4] ต้านเชื้อแบคทีเรีย[5] เชื้อไวรัส[6] เชื้อรา[7] และมีคุณสมบัติยับยั้งการอักเสบ[8] นอกจากนี้ยังพบสารอื่นๆ อีก เช่น อะโรมาติกแอซิด เอสเทอร์ แอลดีไฮด์ คีโตน กรดไขมัน สเตียรอยด์ กรดอะมิโน แอลกอฮอล์ ฯลฯ[9] ทั้งนี้องค์ประกอบที่แตกต่างกันจะขึ้นอยู่กับแหล่งของชนิดของพืชที่ผึ้งไปเก็บยางไม้มา

ในปัจจุบันได้มีการศึกษาวิจัยถึงคุณสมบัติของโพรพอลิสในทางการแพทย์อย่างกว้างขวาง และมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับความสามารถของโพรพอลิสในด้านการช่วยสมานแผล รักษาแผลเบาหวาน บำบัดอาการภูมิแพ้ ช่วยต่อต้านเซลล์มะเร็ง[10] รวมถึงช่วยต่อต้านโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส รา และแบคทีเรีย แต่การศึกษาเหล่านี้ก็ล้วนเป็นการศึกษาวิจัยโพรพอลิสในต่างประเทศทั้งสิ้น สำหรับในประเทศไทยนั้นยังมีการศึกษาในด้านนี้ไม่แพร่หลายมากนัก จากผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคผิวหนังของโพรพอลิสในผึ้งพันธุ์ของไทยพบว่าสารสกัดที่มีความเข้มข้น 64 mg/ml มีเปอร์เซ็นการยับยั้งเชื้อราได้สูงที่สุด[11] เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดโพรโพลิสที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า แต่สำหรับในชันโรงนั้นยังไม่มีรายงาน

ผู้ทำการศึกษาวิจัย ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของสารสกัดโพรพอลิสของชันโรงในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ทางการแพทย์ได้จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง

สำหรับในการศึกษาครั้งนี้จะเป็นการทดสอบผลของสารสกัดโพรพอลิสจากรังชันโรง เนื่องมาจากว่าการดูแลจัดการชันโรงสามารถทำได้สะดวกกว่าผึ้งเพราะชันโรงไม่มีเหล็กไน โอกาสการย้ายรังน้อย และมีความหลากชนิดมากกว่าผึ้งโดยชันโรงที่พบในประเทศไทยมีมากถึง 22 ชนิด และในการทดลองครั้งนี้ได้เลือกใช้โพรพอลิสจากชันโรง 2 ชนิด คือ *Tetrigona apicalis* และ *Trigona thoracica* จากจังหวัดกาญจนบุรี เพราะชันโรงทั้ง 2 ชนิด นี้สามารถพบได้ทั่วไปในท้องถิ่น โดยนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคผิวหนังในคน 4 ชนิด คือ *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* และ *Microsporum gypseum* เนื่องจากเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังในคนนั้นเป็นเชื้อราที่พบมากที่สุดและยาที่ใช้รักษาในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นยาที่ผลิตขึ้นจากการสังเคราะห์ทางเคมี ยังไม่มีตัวยาที่ผลิตขึ้นจากสารสกัดจากธรรมชาติซึ่งน่าที่จะมีความปลอดภัยมากกว่าและมีผลข้างเคียงต่อร่างกายของคนน้อยกว่า จึงเป็นมูลเหตุจูงใจให้สนใจที่จะศึกษาผลของสารสกัดจากโพรพอลิสต่อการยับยั้งเชื้อราก่อโรคผิวหนังในคน เพื่อที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของโพรพอลิสจากรังชันโรงในพื้นที่ศึกษา
2. เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของตัวทำละลายที่เหมาะสมที่จะใช้ในการสกัดโพรพอลิส
3. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดโพรพอลิสของผึ้งและชันโรงที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดโพรพอลิส

1. เก็บตัวอย่างปากทางเข้ารังชันโรง 2 ชนิด คือ *T. apicalis* ซึ่งพบในพื้นที่ศึกษาโครงการ อพ.สธ. เขื่อนศรีนครินทร์ และ *T. thoracica* พบในพื้นที่ศึกษาฯ เขาวังเขมร จังหวัดกาญจนบุรี

ภาพที่ 1 ปากทางเข้ารังชันโรงชนิด *T. apicalis*

ภาพที่ 2 ปากทางเข้ารังชันโรงชนิด *T. thoracica*

2. นำตัวอย่างปากทางเข้ารังมาบดในโกร่งบดยาให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วชั่งให้ได้ปริมาณ 15 กรัม

3. นำมาละลายด้วยน้ำกลั่นและเอธิลแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ดังนี้ 95%, 70%, 40% และ 5% ตามลำดับ โดยใช้ปริมาตรของสารละลาย 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายไปเขย่าในสภาวะที่ไม่มีแสงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน

4. นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรองโดยใช้เครื่องกรองสูญญากาศ เพื่อกำจัดเศษดินและสิ่งสกปรกอื่นๆ ออก สารละลายที่กรองได้จะเรียกว่า EEP (ethyl alcohol extract of propolis)

5. นำสารละลาย EEP ไปทำการระเหยแห้งด้วยเครื่อง Rotary evaporator หรือ Freeze dryer จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้มาหาเปอร์เซ็นต์ยีลด์ (percent yield)

6. เมื่อได้สารสกัดหยาบ (crude extract) โพรพอลิสแล้ว นำไปละลายด้วย 1% DMSO (Dimethyl sulfoxide) ที่ความเข้มข้น 64 mg/ml หรือ ละลายใน acetone (ในกรณีที่ไม่สามารถละลายใน 1% DMSO)

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato dextrose agar) ปริมาณ 25 ml/จานเพาะเชื้อ ผสมสารละลาย EEP ที่สกัดจากเอธิลแอลกอฮอล์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน โดยมีความเข้มข้น 64 mg/ml เทลงในจานเพาะเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปตั้งใน laminar flow และเปิด UV เพื่อให้จานเพาะเชื้อแห้งและฆ่าเชื้อต่างๆ

3. การเตรียมเชื้อราที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อราที่ใช้ในการทดลองเป็นเชื้อราก่อโรคผิวหนังในคน ซึ่งเตรียมจากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จำนวน 4 ชนิด ได้แก่

1. *Trichophyton rubrum*
2. *Trichophyton matagrophytes*
3. *Microsporum canis*
4. *Microsporum gypseum*

โดยมีขั้นตอนการเลี้ยงเชื้อราใน agar slant เพื่อใช้สำหรับเป็น stock เมื่อเชื้อราเจริญเต็มที่จึงนำเส้นใยรามาเลี้ยงในจานเพาะเชื้อ เพื่อเตรียมไว้สำหรับทดสอบกับสารสกัดโพรพอลิสต่อไป

ภาพที่ 3 เชื้อราที่ใช้ในการทดลองทั้ง 4 ชนิด ซึ่งเลี้ยงใน agar slant

4. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราก่อโรคผิวหนังกับสารสกัดโพรพอลิส

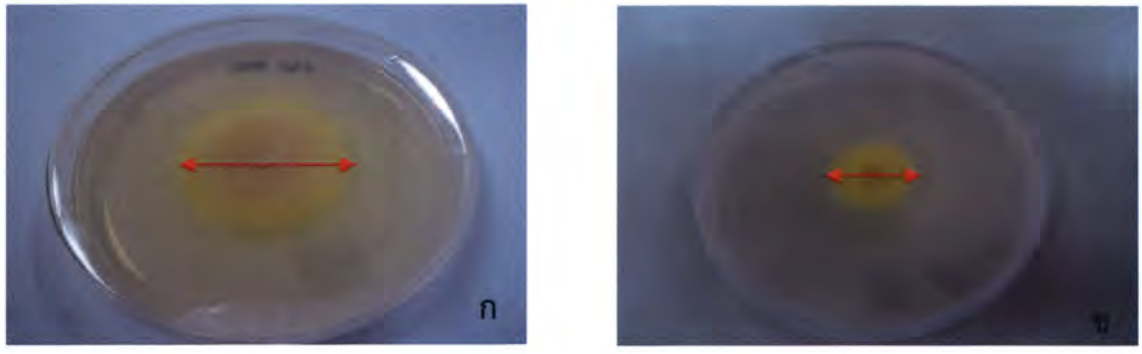
1. ใช้ cork borer เจาะเส้นใยราที่เจริญเต็มที่ มาวางตรงกลางของจานเพาะเชื้อที่ผสมสารละลาย EEP ที่สกัดจากเอธิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นต่างๆ กันไว้แล้ว โดยมีชุดควบคุมคือจานเพาะเชื้อที่ไม่ใส่สารละลาย EEP แต่ใส่ 1% DMSO หรือ acetone แทน และจานเพาะเชื้อที่มีเฉพาะ PDA อย่างเดียว

ภาพที่ 4 แสดงการใช้ cork borer เจาะเส้นใยรา (ก.) และนำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการทดสอบ (ข.)

2. ตั้งจานเพาะเชื้อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตและวัดเส้นผ่านศูนย์กลางการเจริญเติบโตของเชื้อรา ทุกๆ 7 และ 14 วัน พร้อมบันทึกผล

3. นำผลมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (percentage of growth inhibition) โดยใช้สูตรคำนวณ percent inhibition (Reyes Chilpa *et al.*, 1997) ดังนี้

$$\text{percent inhibition} = \frac{(\text{mycelial growth in control} - \text{mycelial growth in propolis}) \times 100}{\text{mycelial growth in control}}$$



ภาพที่ 5 ผลการเจริญของเชื้อราของกลุ่มควบคุมที่ผสม 1% DMSO และ acetone (ก.) กลุ่มทดลอง (ข.)

4. วิเคราะห์เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดโพรพอลิสที่ได้จากชันโรง 2 ชนิด โดยใช้การเปรียบเทียบข้อมูลในเชิงสถิติวิธี One – way ANOVA และ Independent Sample T Test

ผลการศึกษา

1. เปอร์เซ็นต์ยีลด์ของสารสกัดหยาบโพรพอลิส

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์ยีลด์ของสารสกัดหยาบโพรพอลิสจาก *T. apicalis*

ความเข้มข้นของตัวทำละลาย (% ethyl alcohol)	เปอร์เซ็นต์ยีลด์
95	43.67
70	22.93
40	1.08
5	3.08

ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์ยีลด์ของสารสกัดหยาบโพรพอลิสจาก *T. thoracica*

ความเข้มข้นของตัวทำละลาย (% ethyl alcohol)	เปอร์เซ็นต์ยีลด์
95	47.45
70	55.12
40	6.00
5	2.33

2. ลักษณะของสารสกัดหยาบโพรพอลิส

สารสกัดหยาบโพรพอลิสจากปากทางเข้ารังชันโรงทั้ง 2 ชนิด มีลักษณะที่แตกต่างกัน โดยสารสกัดหยาบโพรพอลิสที่สกัดได้จะมีลักษณะเหนียวข้น และมีสีที่แตกต่างกัน ผลจากการสกัดครั้งนี้พบว่า สารสกัดหยาบของโพรพอลิสจาก *T. apicalis* มีสีเหลืองอ่อน ส่วนสารสกัดหยาบจาก *T. thoracica* มีสีน้ำตาลเข้ม การที่โพรพอลิสจากชันโรงที่ได้มีสีและคุณลักษณะที่แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากแหล่งที่ทำการเก็บตัวอย่างโพรพอลิสมาจากพื้นที่ที่แตกต่างกัน

ภาพที่ 6 ลักษณะของสารสกัดหยาบโพรพอลิสจาก *T. apicalis* (ก.) และ *T. thoracica* (ข.)

3. ลักษณะของสารสกัดโพรพอลิสเมื่อผ่านการกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ

ลักษณะของสารสกัดโพรพอลิสเมื่อผ่านการกรองด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ จะมีลักษณะใส โดยสารสกัดโพรพอลิสที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอธิลแอลกอฮอล์ที่เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสูงจะให้สีของสารละลายเข้มกว่าเอธิลแอลกอฮอล์ที่มีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นต่ำ

ภาพที่ 7 ลักษณะของสารสกัดโพรพอลิสเมื่อผ่านการกรองสูญญากาศแล้ว (จากซ้ายไปขวา น้ำกลั่น, 5%, 40%, 70% และ 95% ethyl alcohol)

4. การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราในจานเพาะเชื้อที่ผสมสารสกัดโพรพอลิส *T. apicalis*

สารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา			
	T. rubrum	*T. mentagrophytes*	*M. canis*	*M. gypseum*
95	64.28	26.67	63.50	55.00
70	64.28	36.67	70.00	64.28
40	Contaminated			
5	Contaminated			

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราในจานเพาะเชื้อที่ผสมสารสกัดโพรพอลิส *T. thoracica*

สารสกัดที่ความเข้มเข้มข้นต่างๆ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา			
	T. rubrum	*T. mentagrophytes*	*M. canis*	*M. gypseum*
95	64.28	53.33	75.00	64.28
70	64.28	66.67	75.00	64.28
40	Contaminated			
5	Contaminated			

ตารางที่ 5 แสดงผลการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางการเจริญของเชื้อราในกลุ่มควบคุม

กลุ่มควบคุม	เส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อรา (cm.)			
	T. rubrum	*T. mentagrophytes*	*M. canis*	*M. gypseum*
1% DMSO	2.55	4.85	4.45	5.50
Acetone	1.40	1.50	2.00	1.40
Blank	2.50	5.50	3.85	6.35

จากผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา พบว่าการยับยั้งเชื้อราของโพรพอลิสทั้ง 2 ชนิดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสารสกัดจากรัง *T. thoracica* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ทุกชนิด ส่วนสารสกัดจากรัง *T. apicalis* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ทุกชนิดแต่การยับยั้งการเจริญของ *T. mentagrophytes* มีผลค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับเชื้อราชนิดอื่น

5. การวิเคราะห์ทางสถิติของการทดสอบเชื้อรากับสารสกัดโพรพอลิส

5.1 ผลของสารสกัดโพรพอลิสที่สกัดด้วย 95% เอธิลแอลกอฮอล์ ต่อเชื้อรา *T. rumbrum*

จากผลการศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *T. rubrum* ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองด้วยวิธี One – way ANOVA ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมี H0 คือ ไม่มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราในทุกกลุ่ม และ H1 คือ มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราอย่างน้อย 1 กลุ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้ผลดังตารางที่ 6 โดยมีค่าความเชื่อมั่น < 0.05 แสดงการปฏิเสธ H0 ยอมรับ H1

ตารางที่ 6 แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา *T.rubrum* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

สารสกัดโพรพอลิส	การเจริญของเชื้อรา
T. thoracica	0.50a
T. apicalis	0.55a
control	1.40b

หมายเหตุ a b มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$

จากผลการวิเคราะห์แสดงว่าค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา ในสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. thoracica* และ *T. apicalis* สกัดด้วย 95% เอธิลแอลกอฮอล์ ไม่มีความแตกต่างกัน แต่การเจริญของเชื้อราในสารสกัดโพรพอลิสทั้งสองมีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$

5.2 ผลของสารสกัดโพรพอลิสที่สกัดด้วย 70% เอธิลแอลกอฮอล์ ต่อเชื้อรา *T. rumbrum*

จากผลการศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *T. rubrum* ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองด้วยวิธี One – way ANOVA ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมี H0 คือ ไม่มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราในทุกกลุ่ม และ H1 คือ มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราอย่างน้อย 1 กลุ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้ผลดังตารางที่ 7 โดยมีค่าความเชื่อมั่น < 0.05 แสดงการปฏิเสธ H0 ยอมรับ H1

ตารางที่ 7 แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา *T. rubrum* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

สารสกัดโพรพอลิส	การเจริญของเชื้อรา
T. thoracica	0.50a
T. apicalis	0.50a
control	1.40b

หมายเหตุ a b มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$

จากผลการวิเคราะห์แสดงว่าค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา ในสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. thoracica* และ *T . apicalis* สกัดด้วย 70 % เอธิลแอลกอฮอล์ ไม่มีความแตกต่างกัน แต่การเจริญของเชื้อราในสารสกัดโพรพอลิสทั้งสองมีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$

5.3 ผลของสารสกัดโพรพอลิสที่สกัดด้วย 95% เอธิลแอลกอฮอล์ ต่อเชื้อรา *T. mentagrophytes*

จากผลการศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *T. mentagrophytes* ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองด้วยวิธี One – way ANOVA ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมี H0 คือ ไม่มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราในทุกกลุ่ม และ H1 คือ มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราอย่างน้อย 1 กลุ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้ผลดังตารางที่ 8 โดยมีค่าความเชื่อมั่น < 0.05 แสดงการปฏิเสธ H0 ยอมรับ H1

ตารางที่ 8 แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา *T. mentagrophytes* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

สารสกัดโพรพอลิส	การเจริญของเชื้อรา
T. thoracica	0.70a
T. apicalis	1.20b
control	1.50b

หมายเหตุ a b มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$

จากผลการวิเคราะห์แสดงว่าค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา ในสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. apicalis* สกัดด้วย 95% เอธิลแอลกอฮอล์ และ กลุ่มควบคุม ไม่มีความแตกต่างกัน แต่การเจริญของเชื้อราใน สารสกัดโพรพอลิสจาก *T. thoracica* สกัดด้วย 95 % เอธิลแอลกอฮอล์ มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$

5.4 ผลของสารสกัดโพรพอลิสที่สกัดด้วย 70% เอธิลแอลกอฮอล์ ต่อเชื้อรา *T. mentagrophytes*

จากผลการศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *T. mentagrophytes* ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองด้วยวิธี One – way ANOVA ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมี H0 คือ ไม่มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราในทุกกลุ่ม และ H1 คือ มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราอย่างน้อย 1 กลุ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้ผลดังตารางที่ 9 โดยมีค่าความเชื่อมั่น < 0.05 แสดงการปฏิเสธ H0 ยอมรับ H1

ตารางที่ 9 แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา *T. mentagrophytes* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

สารสกัดโพรพอลิส	การเจริญของเชื้อรา
T. thoracica	0.50a
T. apicalis	0.95b
control	1.50c

หมายเหตุ a b c มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$

จากผลการวิเคราะห์แสดงว่าค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราในกลุ่มควบคุมและในสารสกัดโพรพอลิสทั้ง 2 ชนิดที่สกัดด้วย 70 % เอธิลแอลกอฮอล์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$

5.5 ผลของสารสกัดโพรพอลิสที่สกัดด้วย 95% เอธิลแอลกอฮอล์ ต่อเชื้อรา *M. canis*

จากผลการศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *M. canis* ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองด้วยวิธี One – way ANOVA ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมี H0 คือ ไม่มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราในทุกกลุ่ม และ H1 คือ มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราอย่างน้อย 1 กลุ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้ผลดังตารางที่ 10 โดยมีค่าความเชื่อมั่น < 0.05 แสดงการปฏิเสธ H0 ยอมรับ H1

ตารางที่ 10 แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา *M. canis* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

สารสกัดโพรพอลิส	การเจริญของเชื้อรา
T. thoracica	0.73a
T. apicalis	0.60a
control	2.00b

หมายเหตุ a b มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$

จากผลการวิเคราะห์แสดงว่าค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา ในสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. thoracica* และ *T. apicalis* สกัดด้วย 95 % เอธิลแอลกอฮอล์ ไม่มีความแตกต่างกัน แต่การเจริญของเชื้อราในสารสกัดโพรพอลิสทั้งสองมีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$

5.6 ผลของสารสกัดโพรพอลิสที่สกัดด้วย 70% เอธิลแอลกอฮอล์ ต่อเชื้อรา *M. canis*

จากผลการศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *M. canis* ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองด้วยวิธี One – way ANOVA ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมี H0 คือ ไม่มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราในทุกกลุ่ม และ H1 คือ มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราอย่างน้อย 1 กลุ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้ผลดังตารางที่ 11 โดยมีค่าความเชื่อมั่น < 0.05 แสดงการปฏิเสธ H0 ยอมรับ H1

ตารางที่ 11 แสดงผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา *M. canis* ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

สารสกัดโพรพอลิส	การเจริญของเชื้อรา
T. thoracica	0.50a
T. apicalis	0.60a
control	2.00b

หมายเหตุ a b มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$

จากผลการวิเคราะห์แสดงว่าค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา ในสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. thoracica* และ *T. apicalis* สกัดด้วย 70 % เอธิลแอลกอฮอล์ ไม่มีความแตกต่างกัน แต่การเจริญของเชื้อราในสารสกัดโพรพอลิสทั้งสองมีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$

5.7 ผลของสารสกัดโพรพอลิสที่สกัดด้วย 95% เอธิลแอลกอฮอล์ ต่อเชื้อรา *M. gypseum*

จากผลการศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *M. gypseum* ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองด้วยวิธี One – way ANOVA ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมี H0 คือ ไม่มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราในทุกกลุ่ม และ H1 คือ มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราอย่างน้อย 1 กลุ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้ผลดังตารางที่ 12 โดยมีค่าความเชื่อมั่น < 0.05 แสดงการปฏิเสธ H0 ยอมรับ H1

ตารางที่ 12 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติของเชื้อรา *M. gypseum* ด้วยวิธี One – way ANOVA ที่ $P < 0.05$

สารสกัดโพรพอลิส	การเจริญของเชื้อรา
T. thoracica	0.50a
T. apicalis	0.63a
control	1.40b

หมายเหตุ a b มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$

จากผลการวิเคราะห์แสดงว่าค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา ในสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. thoracica* และ *T. apicalis* สกัดด้วย 95 % เอธิลแอลกอฮอล์ ไม่มีความแตกต่างกัน แต่การเจริญของเชื้อราใน สารสกัดโพรพอลิสทั้งสองมีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$

5.8 ผลของสารสกัดโพรพอลิสที่สกัดด้วย 70% เอธิลแอลกอฮอล์ ต่อเชื้อรา *M. gypseum*

จากผลการศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *M. gypseum* ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองด้วยวิธี One – way ANOVA ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมี H0 คือ ไม่มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราในทุกกลุ่ม และ H1 คือ มีความแตกต่างของการเจริญของเชื้อราอย่างน้อย 1 กลุ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้ผลดังตารางที่ 13 โดยมีค่าความเชื่อมั่น < 0.05 แสดงการปฏิเสธ H0 ยอมรับ H1

ตารางที่ 13 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติของเชื้อรา *M. gypseum* ด้วยวิธี One – way ANOVA ที่ $P < 0.05$

สารสกัดโพรพอลิส	การเจริญของเชื้อรา
T. thoracica	0.50a
T. apicalis	0.50a
control	1.40b

หมายเหตุ a b มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$

จากผลการวิเคราะห์แสดงว่าค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา ในสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. thoracica* และ *T. apicalis* สกัดด้วย 70 % เอธิลแอลกอฮอล์ ไม่มีความแตกต่างกัน แต่การเจริญของเชื้อราในสารสกัดโพรพอลิสทั้งสองมีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$

5.9 ผลของสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. apicalis* ต่อเชื้อรา *T. rubrum*

จากผลการศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *T. rubrum* ในโพรพอลิสระหว่างกลุ่มที่สกัดด้วย 95% เอธิลแอลกอฮอล์ และกลุ่มที่สกัดด้วย 70% เอธิลแอลกอฮอล์ ด้วยวิธี Independent Sample T Test ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมี H0 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่ม ไม่แตกต่างกัน และ H1 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่ม แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าความเชื่อมั่น > 0.05 แสดงการยอมรับ H0 ปฏิเสธ H1 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราในสารสกัดทั้ง 2 กลุ่ม ไม่แตกต่างกัน

5.10 ผลของสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. apicalis* ต่อเชื้อรา *T. mentagrophytes*

จากผลการศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *T. mentagrophytes* ในสารสกัดโพรพอลิส ระหว่างกลุ่มที่สกัดด้วย 95% เอธิลแอลกอฮอล์และกลุ่มที่สกัดด้วย 70% เอธิลแอลกอฮอล์ ด้วยวิธี Independent Sample T Test ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมี H0 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่ม ไม่แตกต่างกัน และ H1 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่ม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าความเชื่อมั่น < 0.05 แสดงการปฏิเสธ H0 ยอมรับ H1 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราในสารสกัดทั้ง 2 กลุ่ม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

5.11 ผลของสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. apicalis* ต่อเชื้อรา *M. canis*

จากผลการศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *M. canis* ในโพรพอลิสระหว่างกลุ่มที่สกัดด้วย 95% เอธิลแอลกอฮอล์และกลุ่มที่สกัดด้วย 70% เอธิลแอลกอฮอล์ ด้วยวิธี Independent Sample T Test ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมี H0 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่ม ไม่แตกต่างกัน และ H1 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่ม แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าความเชื่อมั่น > 0.05 แสดงการยอมรับ H0 ปฏิเสธ H1 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน

5.12 ผลของสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. apicalis* ต่อเชื้อรา *M. gypseum*

จากผลการศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *M. gypseum* ในโพรพอลิสระหว่างกลุ่มที่สกัดด้วย 95% เอธิลแอลกอฮอล์และกลุ่มที่สกัดด้วย 70% เอธิลแอลกอฮอล์ ด้วยวิธี Independent Sample T Test ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมี H0 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่ม ไม่แตกต่างกัน

และ H1 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่ม แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าความเชื่อมั่น > 0.05 แสดงการยอมรับ H0 ปฏิเสธ H1 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน

5.13 ผลของสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. thoracica* ต่อเชื้อรา *T. rubrum*

ไม่สามารถวิเคราะห์ Independent – Sample T Test ได้เนื่องจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของทั้ง 2 กลุ่มทดลองมีค่าเท่ากับศูนย์

5.14 ผลของสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. apicalis* ต่อเชื้อรา *T. mentagrophytes*

จากผลการศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *T. mentagrophytes* ในโพรพอลิสระหว่าง กลุ่มที่สกัดด้วย 95% เอธิลแอลกอฮอล์และกลุ่มที่สกัดด้วย 70% เอธิลแอลกอฮอล์ ด้วยวิธี Independent Sample T Test ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมี H0 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่ม ไม่แตกต่างกัน และ H1 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่ม แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าความเชื่อมั่น > 0.05 แสดงการยอมรับ H0 ปฏิเสธ H1 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน

5.15 ผลของสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. apicalis* ต่อเชื้อรา *M. canis*

จากผลการศึกษาข้อมูลเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อรา *M. canis* ในโพรพอลิสระหว่างกลุ่มที่สกัดด้วย 95% เอธิลแอลกอฮอล์และกลุ่มที่สกัดด้วย 70% เอธิลแอลกอฮอล์ ด้วยวิธี Independent Sample T Test ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยมี H0 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่ม ไม่แตกต่างกัน และ H1 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่ม แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าความเชื่อมั่น > 0.05 แสดงการยอมรับ H0 ปฏิเสธ H1 คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน

5.16 ผลของสารสกัดโพรพอลิสจาก *T. apicalis* ต่อเชื้อรา *M. gypseum*

ไม่สามารถวิเคราะห์ Independent – Sample T Test ได้เนื่องจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของทั้ง 2 กลุ่มทดลองมีค่าเท่ากับศูนย์

สรุปและวิจารณ์ผล

การสกัดโพรพอลิสด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กันพบว่าโพรพอลิสที่สกัดด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์และ 70 เปอร์เซ็นต์ ให้เปอร์เซ็นต์ยีลด์ของสารสกัดหยาบโพรพอลิสได้มากที่สุด คือ โพรพอลิสจาก *T. apicalis* ได้ 43.67% และ 22.93% ตามลำดับ ส่วนโพรพอลิสจาก *T. thoracica* ได้ 47.45% และ 55.12% ตามลำดับ และสีของสารละลายโพรพอลิสที่สกัดจากเอธิลแอลกอฮอล์ที่มีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นที่สูงกว่าจะให้สีของสารละลายโพรพอลิสที่เข้มกว่าที่สกัดจากเอธิลแอลกอฮอล์ที่มีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นต่ำรวมถึงน้ำกลั่นด้วย ดังนั้นเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของเอธิลแอลกอฮอล์จึงน่าจะมีผลต่อปริมาณของสารสกัดโพรพอลิส และเมื่อพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์ยีลด์ของสารสกัดหยาบโพรพอลิสจะเห็นว่า 95% และ 70% เอธิลแอลกอฮอล์ สามารถสกัดโพรพอลิสได้มากที่สุด ดังนั้นจึงน่าจะเหมาะสมที่สุดที่จะใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดโพรพอลิส ส่วนโพรพอลิสทั้ง 2 ชนิดที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายนั้นเกิดการปนเปื้อนของเชื้อราเกิดขึ้น ซึ่งเชื้อราที่เกิดขึ้นนั้นอาจจะเป็นเชื้อราที่อยู่ในดินซึ่งปะปนติดมากับปากทางเข้ารังชันโรงที่นำมาทำการสกัด ซึ่งควรจะนำเชื้อรามาทำการวิเคราะห์เพื่อจำแนกชนิดต่อไป

สำหรับผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังในคนของสารสกัดโพรพอลิสของชันโรง 2 ชนิด พบว่า โพรพอลิสที่สกัดจาก *T. apicalis* สามารถยับยั้งการเจริญได้ดีในเชื้อรา *T. rubrum, M. canis* และ *M. gypseum* โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *M. canis* ได้ดีที่สุด ส่วนเชื้อรา *T. mentagrophytes* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้อยที่สุด สำหรับโพรพอลิสที่สกัดจาก *T. thoracica* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 4 ชนิดได้ดี เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราจากสารสกัดโพรพอลิสของชันโรงทั้ง 2 ชนิด พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *T. mentagrophytes* ของโพรพอลิสทั้ง 2 ชนิด ที่ใช้ 70% เอธิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในโพรพอลิสชนิดเดียวกันแต่สกัดด้วยตัวทำละลายเอธิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่างกันคือ 95% และ 70% พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจจะเนื่องมาจากโพรพอลิสถูกสกัดด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นสูงจึงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีทั้งคู่ สำหรับการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในโพรพอลิสที่ใช้ 40% และ 5% เอธิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายพบว่าเกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรียและเชื้อราชนิดอื่นๆ ระหว่างทำการทดลอง ซึ่งน่าจะมีสาเหตุมาจากระหว่างการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้ในการทดลองนั้น ในขั้นตอนที่ต้องผสมสารละลายโพรพอลิสลงไป เมื่อผสมแล้วไม่ได้มีการนำอาหารเลี้ยงเชื้อเข้าเครื่อง autoclave อีกครั้งเพื่อทำการฆ่าเชื้อจึงอาจทำให้มีเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ปนเปื้อนได้ อีกทั้งโพรพอลิสยังสกัดด้วยตัวทำละลายเอธิลแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นต่ำจึงอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ในอัตราที่สูงกว่าโพรพอลิสที่สกัดด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ที่มีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสูง

ดังนั้นจากผลการศึกษาจึงสรุปได้ว่าเอธิลแอลกอฮอล์ที่มีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสูงๆ สามารถสกัดโพรพอลิสออกมาได้ดีกว่าที่เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นต่ำ โดย 95% และ 70% เอธิลแอลกอฮอล์ สามารถสกัด

โพรพอลิสออกมาได้ดีที่สุด และโพรพอลิสทั้ง 2 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคผิวหนังในคนได้ ยกเว้นโพรพอลิสจาก *T. apicalis* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *T. mentagrophytes* ได้ค่อนข้างต่ำ ทั้งนี้อาจจะมาจากกลไกทางชีววิทยาบางประการที่ทำให้เชื้อมีความทนต่อสารสกัดโพรพอลิสได้ ดังนั้นหากจะนำสารสกัดโพรพอลิสไปใช้ประโยชน์จริงควรจะมีการจำแนกความจำเพาะของโพรพอลิสจากชันโรงแต่ละชนิด เพื่อให้สะดวกและเกิดประโยชน์สูงสุดในการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. Farnesi, A. P., Aquino-Ferreira, R., De Jong, D., Bastos, J. K. and Soares, A. E. E. 2009. Effects of stingless bee and honey bee propolis on four species of bacteria. *Gen. Mol. Res.* **8(2)**, 635-640.
2. Cirasino, L., Pisati, A. and Fasani, F. 1987. Contact dermatitis from propolis. *Contact Dermatitis.***16**, 110-111.
3. Monti, M., Berti, E., Carminati, G. and Cusini, M. 1983. Occupational and cosmetic dermatitis from propolis. *Contact Dermatitis*. **9**, 163 pp.
4. Sun, F., Hayami, S., Haruna, S., Ogiri, Y., Tanaka, K., Yamada, Y., Ikeda, K., Yamada, H., Sugimoto, H., Kawai, N. and Kojo, S. 2000. In vivo antioxidative activity of propolis evaluated by the interaction with vitamin C and vitamin E and the level of lipid hydroperoxides in rats. *J. Agric. Food Chem*. **48**, 1462-1465.
5. Velikova, M., Bankova, V., Tsvetkova, I., Kujumgiev, A. and Marcucci, M. C. 2000. Antibacterial entkaurene from Brazilian propolis of native stingless bees. *Fitoterapia*. **71**, 693-696 .
6. Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R. and Popov, S. 1999. Antibacterial antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J. Ethnopharmacol*. **64**, 235-240.
7. Ota, C. 2001. Unterkicher, C., Fantinado, V. and Shimizu, M. T. Antifungal activity of propolis on different species of *Candida*. *Mycoses*. **44**, 375-378.
8. Miyataka, H., Nishiki, M., Matsumoto, H., Fujimoto, T., Matsuka, M. and Satoh, T . 1997. Evaluation of Brazilian and Chinese propolis by enzymatic and physico-chemical methods. *Biol. Pharm. Bull*. **20**, 496-501.
9. Bankova, V., Popov, S. and Marekov, N. L. 1983. A study on flavonoid of propolis. *J. Nat. Prod.* **46(4),** 471-474.
10. Burdock, G. A. 1998. Review of the biological properties and toxicity of propolis. *Food Chem. Toxicol*. **36**, 341–363.
11. นรินทร์ ชมภูพวง. 2551. *การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคติดเชื้อราที่ผิวหนังคนของโพรพอลิสไทย.* โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ประจำปีการศึกษา 2551 สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
12. Dobrowolski, J. W., Vohora, S. B., Sharma, K., Shah, S. A., Naqvi, S. A. H., and Dandlya, P. C. 1991. Antibacterial, antifungal, antiamoebic, anti-inflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J. Ethnopharmacol*. **35**, 77-82.

13. อังคณา ฉายประเสริฐ. 2548. *ราวิทยา.* จุลชีววิทยาการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล. หน้า 12-26.

ประวัติคณะวิจัย

1. ผศ. ดร. สุรีรัตน์ เดี่ยววาณิชย์

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นาง สุรีรัตน์ เดี่ยววาณิชย์
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs Sureerat Deowanish
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3220100521625
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก
   ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
   โทรศัพท์ 02-218-5272
   โทรสาร 02-218-5276
   E-mail sureerat.d@chula.ac.th
5. ประวัติการศึกษา

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	ปีที่ได้รับ
Tamagawa University, Japan	Dr. Agr.	กีฏวิทยา	2540
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	วท.ม.	สัตววิทยา	2529
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	วท.บ.	สัตววิทยา	2526

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ ชีววิทยาของผึ้ง
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ
   7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย: ชื่อแผนงานวิจัย -
   7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย: ชื่อโครงการวิจัย
   7.2.1 ลักษณะเฉพาะทางเคมีและกายภาพของน้ำผึ้งจากชันโรงชนิดต่างๆ ในประเทศไทย
   7.3 ผู้ร่วมวิจัย: ชื่อโครงการวิจัย
   7.3.1 การศึกษาปัจจัยในการอยู่รอดของผึ้งหลวง (*Apis dorsata*) ที่สัมพันธ์กับความหลากหลายทางชีวภาพของถิ่นที่อยู่อาศัยในเขตร้อน
   7.3.2 การศึกษาปัจจัยการอยู่รอดของผึ้งมิ้ม ชันโรง และพืชอาศัยที่สัมพันธ์กับความหลากหลายทางชีวภาพของถิ่นที่อยู่อาศัยในเขตร้อน
   7.3.3 กลุ่มวิจัยด้านความหลากหลายทางชีววิทยาและการขยายพันธุ์ของผึ้งและไหมไทย
   7.4 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว (ผลงานวิจัย)
   7.4.1 หนังสือ

สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ และ สุรีรัตน์ เดี่ยววาณิชย์. 2554. *แมลง*. สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ฉบับเสริมการเรียนรู้ เล่ม 17. บริษัท ด่านสุทธาการพิมพ์ กรุงเทพฯ. หน้า 1-67.

สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ และ สุรีรัตน์ เดี่ยววาณิชย์. 2555. *ชีววิทยาของผึ้ง*. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ. 341 หน้า.

สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ, สุรีรัตน์ เดี่ยววาณิชย์ และ อรวรรณ ดวงภักดี. 2551. *ผึ้งและน้ำผึ้ง*. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ. 95 หน้า.

7.4.2 ผลงานวิจัยที่พิมพ์และเผยแพร่

Chaiyawong, T., **Deowanish, S.**, Wongsiri, S., Sylvester, H. A., Rinderer, T. E., and de Guzman L. I. (2004) Multivariate, Morphometric study of *Apis florea* in Thailand *J. Apicultural Research* 43(3) : 123-127. แหล่งทุน : สวทช.

Chanchao, C., **Deowanish, S.**, and Wongsiri, S. (2000) *Apis cerana* queen breeding, the unique Thai technique for the unique traditional culture. *Journal of Multidisciplinary Research.* 13(2) : 28-33. แหล่งทุน : สวทช.

Deowanish, S., Nakamura, J., Matsuka, M., and Kimura, K. (1996) mtDNA variation among subspecies of *Apis cerana* using restriction fragment length polymorphism. *Apidologie*. 407-413. แหล่งทุน : Hitachi Scholarship Foundation

Duangphakdee, O., Koeniger, N., Koeniger, G., Wongsiri, S. and **Deowanish, S.** 2005. Reinforcing a barrier - social defense of the dwarf honeybee (*Apis florea*) released by the weaver ant (*Oecophylla smaragdina*). *Apidologie*. 36(3): 505-511. แหล่งทุน : สกว.

Duangphakdee, O., Koeniger, N., **Deowanish, S.**, Hepburn, H. R. and Wongsiri, S. 2008. Ant repellent resins of honeybees and stingless bees. *Insect. Soc.* (2009) 56:333–339. แหล่งทุน : สกว.

Insuan, S., **Deowanish, S.**, Klinbunga, S., Sittipraneed, S., Sylvester, H.A. and Wongsiri, S. 2007. Genetic differentiation of the giant honeybee (*Apis dorsata*) in Thailand analyzed by mitochondrial genes and microsattelites. *Biochemical Genetics*. 45(3-4): 345-361. แหล่งทุน : สกว.

Jongjitvimol, T,; Boontawon, K.; Wattanachaiyingcharoen, W.; and **Deowanish, S.** 2005. Nest Dispersion of a Stingless Bee Species; *Trigona collina* Smith, 1857 (Apidae, Meliponinae) in a Mixed Deciduous Forest in Thailand. *The Natural History Journal of Chulalongkorn University* 5(2) : 69 – 71

Klakasikorn, A., Wongsiri, S., **Deowanish, S.** and Duangphakdee, O. 2005. New Record of

Stingless Bees (Meliponini: *Trigona*) in Thailand. *The Natural History Journal of Chulalongkorn University*. 5(1): 1-7. แหล่งทุน : สกว.

Suppasat, T., Smith, D. B., **Deowanish, S.** and Wongsiri, S. 2007. Matrilineal origins of *Apis mellifera* in Thailand. *Apidologie*.38: 323-334. แหล่งทุน : สกว.และ สกอ.

Wongsiri, S., Chanchao, C., **Deowanish, S.**, Aemprapa, S., Chaiyawong, T., Petersen, S., and Leepitakrat, S. (2000) Honey bee diversity and beekeeping in Thailand. *Bee World*. 81(1): 20-9. แหล่งทุน : สวทช.

Wongsiri, S. and **Deowanish, S.** (1999). Bees and beekeeping in Thailand. *Honeybee Science*. 20(3): 135-137. แหล่งทุน : สวทช

Wongvilas, S., **Deowanish, S.,** Lim, J., Xie, V. R. D., Griffith, O. W., and Oldroyd, B. P. (2010) Interspecific and conspecific colony mergers in the dwarf honey bees *Apis andreniformis* and *A. florae*. *Insect. Soc*. 57: 251–255. แหล่งทุน : BRT

Wongvilas, S., Higgs, J.S., Beekman , M., Wattanachaiyingcharoen , W., **Deowanish, S.** and Benjamin P. Oldroyd (2010) Lack of interspecific parasitism between the dwarf honeybees *Apis andreniformis* and *Apis florae*. *Behav. Ecol. Sociobiol*. 64: 1165–1170 แหล่งทุน : BRT

Takahashi, J., Yoshida, T., Takagi, T., Akimoto, S., Woo, K. S., **Deowanish, S.**, Hepburn, R., Nakamura, J. and Matsuka, M. 2007. Geographic variation in the Japanese islands of *Apis cerana japonica* and in *A. cerana* populations bordering its geographic range. *Apidologie*. 38:335-340.