บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ตอน คือ

<u>การศึกษาปัจจัยและวิธีผลิตรอยัลเยลลีจากผึ้งโพรงไทย</u> (<u>Apis cerana indica</u>)

1. การศึกษาขนาดของถ้วยที่ใช้ผลิตรอยัลเยลลี(ถ้วยเพาะ)

1.1 สถานที่ทดลอง : หน่วยวิจัยชีววิทยาของผึ้ง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ต.บางขันแตก อ.เมือง จ.สมุทรสงคราม

1.2 ระยะเวลาทำการทดลอง : 7-11 เมษายน 2536

1.3 อุปกรณ์ :

1.3.1 ผึ้งโพรงไทย(<u>A. cerana indica</u>)จำนวน 4 รัง (เลี้ยงในหีบขนาดมาตรฐาน)แต่ละรังประกอบด้วยคอนดักแด้ คอนตัวหนอน และคอนอาหาร(น้ำหวานและเกสร)อย่างละ 2 คอน ผึ้งโพรงไทยดังกล่าวได้มาจากการจับผึ้งในธรรมชาติบริเวณใกล้เคียงกับหน่วยวิจัยชีววิทยาของผึ้ง ต.บางขันแตก อ.เมือง จ.สมุทรสงคราม มาเลี้ยงและขยายพันธุ์

1.3.2 ถ้วยเพาะที่ทำด้วยไขผึ้ง(wax cups) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางด้านในและความยาวด้านในดังนี้ 7x9, 7x10, 7x11, 8x9, 8x10, 8x11, 9x9, 9x10, 9x11, 10x9, 10x10 และ 10x11 มม.

1.3.3 คอนสำหรับผลิตรอยัลเยลลี(คอนเพาะ)จำนวน 4 คอน แต่ละคอนมี 3 บาร์ (ภาพที่ 3.1)

1.3.4 ตัวหนอนผึ้งงานอายุประมาณ 1 วัน

1.3.5 รอยัลเยลลีจากผึ้งพันธุ์ใช้สำหรับรองก้นถ้วยเพาะ

1.3.6 อุปกรณ์สำหรับย้ายตัวอ่อนซึ่งทำด้วยโลหะ (ภาพที่ 3.2)

1.3.7 น้ำตาลและถั่วเหลืองป่น ใช้เป็นอาหารผึ้งขณะผลิตรอยัลเยลลี

1.3.8 เครื่องชั่งละเอียด : Precisa 180 A

1.3.9 กล่องขังผึ้งนางพญา (queen cages)

1.3.10 เทียนไข พายตักรอยัลเยลลี ปากคีบ และอื่น ๆ

1.4 วิธีทดลอง : ใช้การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ 4x3 Factorial in CRD และ Duncan's New Multiple Range Test ทำ 24 ซ้ำ

1.4.1 ติดถ้วยเพาะขนาดต่างๆกันตังกล่าวขนาดละ 6 ถ้วย/คอนเพาะ จำนวน 4 คอน

1.4.2 นำคอนเพาะจากข้อ 1.4.1ใส่ไว้ในรังผึ้ง หลังจากจับผึ้งนางพญา(queen bee) ออกจากรังแล้วเป็นเวลา 10-12 ชม.(เพื่อทำให้ผึ้งอยู่ในสภาพขาดผึ้งนางพญา)รังละ 1 คอน ปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชม.

1.4.3 นำคอนเพาะออกมาจากรังผึ้ง หยดรอยัลเยลลีลงไปรองก้นถ้วยเพาะถ้วยละ 1 หยด

1.4.4 ย้าย(transfer)ตัวหนอนผึ้งงานอายุประมาณ 1 วัน ใส่ลงในถ้วยเพาะถ้วยละ 1 ตัว(ภาพที่ 3.3) รีบนำคอนเพาะไปใส่ไว้ในรังผึ้งรังเดิม โดยให้คอนเพาะอยู่ระหว่างคอนตัวหนอนและคอนตักแด้

1.4.5 หลังจากนั้น 3 วัน นำคอนเพาะออกมาจากรังผึ้ง(ภาพที่ 3.4)

1.4.6 ใช้ปากคีบ(forceps)เปิดปากถ้วยเพาะ และคีบเอาตัวหนอนที่อยู่ในถ้วยเพาะออกไป (ภาพที่ 3.5)

1.4.7 ใช้พายควักรอยัลเยลลีออกจากถ้วยเพาะ ชั่งน้ำหนักรอยัลเยลลีในแต่ละถ้วย

1.4.8 นำน้ำหนักรอยัลเยลลีที่ได้ มาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistic Analysis System (SAS) (SAS,1985)

1.4.9 นำขนาดถ้วยเพาะที่ได้ผลผลิตรอยัลเยลลีสูงที่สุดไปใช้ข้อ 2.

I 15232517

2. การเปรียบเทียบผลผลิตรอยัลเยลลี จากการใช้ถ้วยเพาะจำนวน 40,60 และ 80 ถ้วยต่อรัง

2.1 สถานที่ทดลอง : ดังอธิบายในข้อ 1.1

2.2 ระยะเวลาทำการทดลอง : 9-13 กันยายน 2536

2.3 อุปกรณ์ :

2.3.1 ผึ้งโพรงไทยจำนวน 9 รัง(เลี้ยงในหีบขนาดมาตรฐาน) ผึ้งแต่ละรังประกอบด้วยคอนตักแด้ คอนตัวหนอน และคอนอาหาร อย่างละ 2 คอน

2.3.2 ถ้วยเพาะที่ทำด้วยไขผึ้งขนาด 9x10 มม.

2.3.3 คอนเพาะจำนวน 9 คอน

2.3.4 อุปกรณ์อื่นๆ ดังอธิบายในข้อ 1.3.4-1.3.10

2.4 วิธีทดลอง : ใช้การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ CRD และ Duncan's New Multiple Range Test ทำ 3 ซ้ำ

2.4.1 ติดถ้วยเพาะ 40,60 และ80 ถ้วย/คอนเพาะ อย่างละ3 คอน

2.4.2 วิธีการทดลองอื่นๆ ดังอธิบายข้อ 1.4.2-1.4.8

2.4.3 นำจำนวนถ้วยเพาะที่ได้ผลผลิตรอยัลเยลลีสูงที่สุดไปใช้ในข้อ3.

3. การเปรียบเทียบผลผลิตรอยัลเยลลีจากการใช้คอนเพาะ 1 และ 2 คอนต่อรัง

3.1 สถานที่ทดลอง : ดังอธิบายในข้อ 1.1

3.2 ระยะเวลาทำการทดลอง : 27-31 ตุลาคม 2536

3.3 อุปกรณ์ :

3.3.1 ผึ้งโพรงไทยจำนวน 6 รัง(เลี้ยงในหีบขนาดมาตรฐาน) ผึ้งแต่ละรังประกอบด้วย คอนตักแด้ คอนตัวหนอน และคอนอาหาร อย่างละ 2 คอน

3.3.2 ถ้วยเพาะที่ทำด้วยไขผึ้งขนาด 9x10 มม.

3.3.3 คอนเพาะจำนวน 9 คอน

3.3.4 อุปกรณ์อื่นๆ ดังอธิบายในข้อ 1.3.4-1.3.10

3.4 วิธีทดลอง : ใช้การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ CRD และ Duncan's New Multiple Range Test ทำ 3 ซ้ำ

3.4.1 ติดถ้วยเพาะ 80 ถ้วย/คอนเพาะ จำนวน 3 คอน และ 40 ถ้วย/คอนเพาะ จำนวน 6 คอน สำหรับกรณีที่ใช้ 1 และ 2 คอนเพาะ/รัง ตามลำดับ (ภาพที่ 3.6)

3.4.2 นำคอนเพาะในข้อ 3.4.1 ใส่ไว้ในรังผึ้งที่จับผึ้งนางพญาออกจากรังแล้วเป็นเวลา 10-12 ชม.รังละ 1และ2 คอน สำหรับคอนที่ติดถ้วยเพาะ 80 และ 40 ถ้วย ตามลำดับ กรณีที่ใช้คอนเพาะ 2 คอนต่อรัง ใช้คอนดักแด้คั่นระหว่างคอนเพาะ (ภาพที่ 3.7) ปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชม.

3.4.3 วิธีทดลองอื่นๆ ดังอธิบายในข้อ 1.4.3-1.4.8

3.4.4 นำจำนวนคอนเพาะที่ได้ผลผลิตรอยัลเยลลีสูงที่สุดไปใช้ในข้อ4.

4. การศึกษาอายุตัวหนอนผึ้งงานและระยะเวลาผลิตรอยัลเยลลี

4.1 สถานที่ทดลอง : ดังอธิบายในข้อ 1.1

4.2 ระยะเวลาทำการทดลอง : 27 พฤศจิกายน - 1 ธันวาคม 2536

4.3 อุปกรณ์ :

4.3.1 ผึ้งโพรงไทยจำนวน 9 รัง(เลี้ยงในหีบขนาดมาตรฐาน) ผึ้งแต่ละรังประกอบด้วยคอนดักแด้ คอนตัวหนอน และคอนอาหาร อย่างละ 2 คอน

4.3.2 ถ้วยเพาะที่ทำด้วยไขผึ้งขนาด 9 x 10 มม.

4.3.3 คอนเพาะจำนวน 9 คอน

4.3.4 ตัวหนอนผึ้งงานอายุ น้อยกว่า1, 1-2 และ 2-3 วัน

4.3.5 อุปกรณ์อื่นๆ ดังอธิบายในข้อ 1.3.5-1.3.10

4.4 วิธีทดลอง : ใช้การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ 3x3 Factorial in CRD และ Duncan's New Multiple Range Test ทำ 60 ซ้ำ

4.4.1 ติดถ้วยเพาะ 60 ถ้วยต่อคอนเพาะ จำนวน 9 คอน

4.4.2 นำคอนเพาะในข้อ 4.4.1 ใส่ไว้ในรังผึ้งที่จับผึ้งนางพญาออกจากรังไปแล้วเป็นเวลา 10-12 ชม. รังละ 1 คอน ปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชม.

4.4.3 นำคอนเพาะออกมาจากรังผึ้ง หยดรอยัลเยลลีลงไปรองก้นถ้วยเพาะๆ 1 หยด

4.4.4 ย้ายตัวหนอนผึ้งงานอายุ น้อยกว่า 1, 1-2 และ 2-3 วัน (ภาพที่ 3.8) ลงในถ้วยเพาะถ้วยละ 1 ตัว อย่างละ 20 ถ้วย/คอนเพาะ รีบนำคอนเพาะไปใส่ไว้ในรังผึ้งตามเดิม โดยให้คอนเพาะอยู่ระหว่างคอนตัวหนอน และคอนตักแด้

4.4.5 เก็บผลผลิตรอยัลเยลลีหลังจากย้ายตัวหนอนเป็นเวลา 1, 2 และ 3 วัน อย่างละ 3 รัง ตามลำดับ

4.4.6 วิธีทดลองอื่นๆ ดังอธิบายในข้อ 1.4.6-1.4.8

4.4.7 นำอายุตัวหนอนผึ้งงานและระยะเวลาผลิต ที่ได้ผลผลิตรอยัลเยลลีสูงที่สุดไปใช้ในข้อ 5. และ 6.

5. การศึกษาผลผลิตรอยัลเยลลี จากการใช้ชนิดและปริมาณรอยัลเยลลีรองก้นถ้วยเพาะแตกต่างกัน

5.1 สถานที่ทดลอง : สถานีวิจัยผึ้ง โครงการส่วนพระองค์ พระราชวังสวนจิตรลดารโหฐาน เขตดุสิต กทม.

5.2 ระยะเวลาทำการทดลอง : 8-12 ธันวาคม 2536

5.3 อุปกรณ์ :

5.3.1 ผึ้งโพรงจำนวน 3 รัง (เลี้ยงในหีบขนาดมาตราฐาน) ผึ้งแต่ละรังประกอบด้วย คอนตักแด้ คอนตัวหนอน 3 คอน และคอนอาหาร อย่างละ 2 คอน

5.3.2 ถ้วยเพาะที่ทำด้วยไขผึ้งขนาด 9 x 10 มม.

5.3.3 คอนเพาะจำนวน 3 คอน

5.3.4 ตัวหนอนผึ้งงานอายุ 1-2 วัน

5.3.5 รอยัลเยลลีจากผึ้งพันธุ์ และจากผึ้งโพรงไทย ใช้สำหรับรองก้นถ้วยเพาะ

5.3.6 อุปกรณ์อื่นๆ ดังอธิบายในข้อ 1.3.6-1.3.10

5.4 วิธีทดลอง : ใช้การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ 2x3 Factorial in CRD และ Duncan's New Multiple Range Test ทำ 30 ซ้ำ

5.4.1 ติดถ้วยเพาะ 60 ถ้วยต่อคอน จำนวน 3 คอน

5.4.2 นำคอนเพาะจากข้อ 5.4.1 ใส่ไว้ในรังผึ้งที่จับผึ้งนางพญาออก

จากรังแล้วเป็นเวลา 10-12 ชม. รังละ 1 คอน ปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชม.

5.4.3 นำคอนเพาะออกมาจากรังผึ้ง หยดรอยัลเยลลีจากผึ้งโพรงไทย และจากผึ้งพันธุ์ ลงไปรองก้นถ้วยเพาะปริมาณชนิดละ 15, 25 และ 45 มก./ถ้วย อย่างละ 10 ถ้วย/คอนเพาะ

5.4.4 ย้ายตัวหนอนผึ้งงานอายุ 1-2 วัน ลงในถ้วยเพาะๆ 1 ตัว รีบนำคอนเพาะไปใส่ไว้ในรังผึ้งตามเดิม โดยให้คอนเพาะอยู่ระหว่างคอนตัวหนอน และคอนดักแด้

5.4.5 วิธีทดลองอื่นๆ ดังอธิบายในข้อ 1.4.5-1.4.8

5.4.6 นำชนิดและปริมาณรอยัลเยลลีที่ใช้รองก้นถ้วยเพาะ ที่ได้ผลผลิตรอยัลเยลลีสูงที่สุดไปใช้ในข้อ 6.

6. การเปรียบเทียบผลผลิตรอยัลเยลลีจากรังผึ้งปกติ และรังผึ้งที่นำเอาคอนดักแด้และคอนอาหารออกอย่างละ 1 คอน(รังดัดแปลง)

6.1 สถานที่ทดลอง : ดังอธิบายในข้อ 1.1

6.2 ระยะเวลาทำการทดลอง : 15-19 ธันวาคม 2536

6.3 อุปกรณ์ :

6.3.1 ผึ้งโพรงไทยจำนวน 6 รัง(เลี้ยงในหีบขนาดมาตราฐาน)ผึ้งแต่ละรังประกอบด้วยคอนดักแด้ คอนตัวหนอน และคอนอาหาร อย่างละ 2 คอน ผึ้งดังกล่าวจำนวน 3 รังถูกทำให้เหลือรังละ 4 คอน โดยการนำเอาคอนดักแด้และคอนอาหารออกอย่างละ 1 คอน

6.3.2 ถ้วยเพาะที่ทำด้วยไขผึ้งขนาด 9 x 10 มม.

6.3.3 คอนเพาะจำนวน 6 คอน

6.3.4 ตัวหนอนผึ้งงานอายุ 1-2 วัน

6.3.5 รอยัลเยลลีจากผึ้งโพรงไทย ใช้สำหรับรองก้นถ้วยเพาะ

6.3.6 อุปกรณ์อื่นๆ ดังอธิบายในข้อ 1.3.6-1.3.10

6.4 วิธีทดลอง : ใช้การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ CRD และ Duncan's New Multiple Range Test ทำ 3 ซ้ำ

6.4.1 ติดถ้วยเพาะ 80 ถ้วยต่อคอนเพาะ จำนวน 6 คอน

6.4.2 นำคอนเพาะจากข้อ 6.4.1 ใส่ไว้ในรังผึ้งที่จับผึ้งนางพญาออก

จากรังแล้วเป็นเวลา 10-12 ชม. รังละ 1 คอน ปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชม.

6.4.3 นำคอนเพาะออกมาจากรังผึ้ง หยดรอยัลเยลลีลงไปรองก้นถ้วยเพาะ ถ้วยละ 1 หยด

6.4.4 ย้ายตัวหนอนผึ้งงานอายุ 1-2 วัน ลงในถ้วยเพาะถ้วยละ 1ตัว รีบนำคอนเพาะไปใส่ไว้ในรังผึ้งตามเดิม โดยให้คอนเพาะอยู่ระหว่างคอนตักแด้และคอนตัวหนอน

6.4.5 วิธีทดลองอื่นๆ ดังอธิบายในข้อ 1.4.5-1.4.8

<u>การศึกษาคุณภาพของรอยัลเยลลีแช่แข็งจากผึ้งโพรงไทย</u> (<u>Apis cerana indica</u>)

1. สถานที่ทำการทดลอง

1.1 สถานที่ผลิตรอยัลเยลลี : หน่วยวิจัยชีววิทยาของผึ้ง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ต.บางขันแตก อ.เมือง จ.สมุทรสงคราม ในระหว่างวันที่ 8-16 สิงหาคม 2536

พืชพรรณธรรมชาติที่เป็นแหล่งอาหาร (เกสร และน้ำหวาน)ของผึ้งระหว่างผลิตรอยัลเยลลีได้แก่ มะพร้าว(<u>Cocos nucifera</u> Linn.) กระถิน(<u>Leucaena leucocephala</u> (Linn.) De Wit.) และต้นจาก (<u>Nypa fruticans</u> Wurmb.)

1.2 สถานที่วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในรอยัลเยลลีจากผึ้งโพรงไทย

1.2.1 ห้องปฏิบัติการทางเคมีอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2.2 หน่วยวิจัยชีววิทยาของผึ้ง ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. วัสดุอุปกรณ์ :

2.1 รอยัลเยลลีจากผึ้งโพรงไทย

2.2 ขวดพลาสติกสีดำ

2.3 ตู้เย็น : Frigidaire

2.4 ผ้ากรองไนลอนขนาด 100 mesh

2.5 อุปกรณ์อื่นๆ

3. วิธีดำเนินการทดลอง :

นำรอยัลเยลลีที่ผลิตได้จากผึ้งโพรงไทย(A. cerana indica) ณ.หน่วยวิจัยชีววิทยาของผึ้ง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ต.บางขันแตก อ.เมือง จ.สมุทรสงคราม ระหว่างวันที่ 8-16 สิงหาคม 2536 รอยัลเยลลีดังกล่าวผ่านการกรองด้วยผ้าไนลอน แล้วจึงบรรจุลงขวดพลาสติก แช่เย็นด้วยน้ำแข็งระหว่างการเดินทางจากสถานที่ผลิต มายังหน่วยวิจัยชีววิทยาของผึ้ง ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กทม. หลังจากนั้นเก็บรักษาโดยการแช่แข็งไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -5 °ซ เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีบางประการในรอยัลเยลลีจากผึ้งโพรงไทย เช่น ความชื้น(moisture) โปรตีน(crude protein) ความเป็นกรด(acidity) เถ้า(ash) 10-ไฮดรอกซี-2-เดคซีโนอิค แอซิด(10-hydroxy-2-decenoic acid) และไขมัน (total lipid) ที่ระยะเวลาในการเก็บรักษา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน (0 หมายถึง แช่แข็งไว้ไม่เกิน 5 วัน) ซึ่งรายละเอียดมีดังนี้

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น(moisture)

ตามวิธีของ National Royal Jelly Fair Trade Conference,(1980)

3.1.1 อุปกรณ์ :

- เครื่องอบสุญญากาศ : Shimizu, VO 4-3
- จานหาความชื้น

3.1.2 วิธีทดลอง :

3.1.2.1 อบจานหาความชื้นที่อุณหภูมิ 105 °ซ จนน้ำหนักคงที่ชั่งน้ำหนักไว้

3.1.2.2 ชั่งรอยัลเยลลีสด 1 ก. ใส่ลงในจานหาความชื้น

3.1.2.3 นำไปอบในเครื่องอบแห้งสุญญากาศที่อุณหภูมิ 70±2 °ซ ความดัน 25±5 มิลลิเมตรปรอท เป็นเวลา 4 ชม.

3.1.2.4 ทำให้เย็นใน desiccator ที่มีซิลิกาเจลเป็นตัวดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนักไว้

3.1.2.5 คำนวณปริมาณความชื้น จากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{B-C}{B-A} \times 100$$

A = น้ำหนักของจานหาความชื้น (ก.)

B = น้ำหนักเริ่มต้นของจานหาความชื้นที่บรรจุรอยัลเยลลี (ก.)

C = น้ำหนักของจานหาความชื้นที่บรรจุรอยัลเยลลีหลังการอบแห้ง (ก.)

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (crude protein)

ตามวิธีของ National Royal Jelly Fair Trade Conference,(1980)

3.2.1 อุปกรณ์ : Kjeldahl apparatus : Gerhardt

3.2.2 สารเคมี :

Copper sulfate : (A.R.grade) Merck,Germany

Potassium sulfate : (A.R.grade) Merck,Germany

Sodium hydroxide : (A.R.grade) Merck,Germany

Boric acide : (A.R.grade) Merck,Germany

Bromocresol green : (A.R.grade) Merck,Germany

Methyl red : (A.R.grade) Merck,Germany

Sulfuric acid : (A.R.grade) BDH,England

3.2.3 วิธีทดลอง :

3.2.3.1 ชั่งรอยัลเยลลีสด 1 ก.ใส่ใน Kjeldahl flask

3.2.3.2 เติม $CuSO_4$ 0.5 ก. และ KSO_4 4.5 ก.

3.2.3.3 เติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น 15 มล.

3.2.3.4 นำไปย่อยจนได้ของเหลวใส ให้ความร้อนต่อไปอีก 1 ชม. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่นลงไป 50 มล.

3.2.3.5 เติม NaOH(40%) จำนวน 40 มล.แล้วนำมากลั่นด้วยไอน้ำ

3.2.3.6 ใช้ boric acid(4%)จำนวน 40 มล.เป็นตัวจับ ammonia ที่ได้จากการกลั่นสารตัวอย่าง จนกระทั่งได้ปริมาตรเป็น 100 มล.

3.2.3.7 นำสารละลายที่กลั่นได้ใน boric acid มาหยด indicator 2-3 หยด แล้วไตเตรทด้วยกรดซัลฟูริค (0.1N)

3.2.3.8 คำนวณปริมาณโปรตีน จากสูตร

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\%)} = \frac{A \times B \times 6.25 \times 1.4}{C}$$

A = normality ของกรดซัลฟูริคที่ใช้ไตเตรท

B = ปริมาณกรดซัลฟูริคที่ใช้ไตเตรท (มล.)

C = น้ำหนักรอยัลเยลลี (ก.)

3.3 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด (acidity)

ตามวิธีของ National Royal Jelly Fair Trade Conference,(1980)

3.3.1 อุปกรณ์ : pH meter : HANNA Instruments 8417

3.3.2 สารเคมี :

Sodium hydroxide :(A.R.grade)Eka Nobel,Sweden

3.3.3 วิธีทดลอง :

3.3.3.1 ชั่งรอยัลเยลลี 1 ก.ใส่ในบีกเกอร์เติมน้ำ 80 มล.

3.3.3.2 คนให้เข้ากันด้วย rotary stirrer

3.3.3.3 ไตเตรทด้วย NaOH ที่อุณหภูมิ25 °ซ จนได้pH 8.3

3.3.3.4 คำนวณค่าความเป็นกรด จากสูตร

ความเป็นกรด(มล.ของ 1 N NaOH/รอยัลเยลลี 100 กรัม)

$$= \frac{AxBx100}{C}$$

A = ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ไตเตรท (มล.)

B = normality ของ NaOH

C = น้ำหนักรอยัลเยลลี (ก.)

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณ 10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA) ตามวิธีของ National Royal Jelly Fair Trade Conference,(1980)

3.4.1 อุปกรณ์ :

- Gas-chromatography : SHIMADZU 7-AG
- pH meter : HANNA Instruments 8417

3.4.2 สารเคมี :

Sodium hydroxide:(A.R.grade) Eka Nobel,Sweden

Hydrochloric acid :(A.R.grade) Merck,Germany

Diethyl ether : (A.R.grade) Merck,Germany

BSA:N,O-bis (trimethylsilyl) acetamide: (A.R.grade) SIGMA, USA.

Trimethylchlorosilane : (A.R.grade)SIGMA,USA.

Chloroform : (A.R.grade) CARLO ERBA

Margaric acid :(A.R.grade) SIGMA,USA.

10-HDA :(A.R.grade) Nippon Shoji, Japan

Nitrogen-Gas :TIG (Industrial grade),Thailand

3.4.3 วิธีทดลอง :

3.4.3.1 ชั่งรอยัลเยลลีสดโดยให้มี 10-HDA อยู่ในปริมาณ 2-10 มก. (รอยัลเยลลีสดประมาณ 1 ก.) ลงใน flask

3.4.3.2 เติมน้ำกลั่นเล็กน้อยและสารละลาย NaOH (30%) 2-3 หยดแล้วคนให้เข้ากัน

3.4.3.3 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มล. แบ่งสารละลายมา 5-20 มล. ใส่ลงในกรวยสกัดแล้วปรับปริมาตรเป็น 200 มล.

3.4.3.4 ทำให้เป็นกรดด้วย HCl โดยให้มี pH ไม่เกิน 3

3.4.3.5 สกัดด้วย diethyl ether 40 มล.และตามด้วย diethyl ether 20 มล. อีก 3 ครั้ง โดยการเขย่าสกัด

3.4.3.6 ล้างชั้น ether ด้วยน้ำกลั่น 20 มล. อีก 4 ครั้ง

3.4.3.7 นำชั้น etherใส่ลงใน flask ล้างกรวยสกัดด้วย etherเล็กน้อยแล้วเทลงไปใน flask

3.4.3.8 ระเหย ether โดยการใช้ก๊าซไนโตรเจนเป่า

3.4.3.9 เติม internal standard solution 2 มล. แล้วระเหยเอา chloroform ออกโดยใช้ก๊าซไนโตรเจนเป่าให้แห้ง

3.4.3.10 เติม TMS reagent 0.5 มล. เขย่าให้เข้ากัน แล้วฉีดเข้าเครื่อง gas chromatography (G.C.) ในปริมาณ 2 ไมโครลิตร

3.4.3.11 คำนวณปริมาณ 10-HDA จากสูตร

$$10\text{-HDA}\ (\%) = \frac{A \times B \times 100}{C \times 1{,}000}$$

A = ปริมาณสาร 10-HDA (มก.)ที่ได้จากกราฟมาตราฐาน

B = dilution factor

C = น้ำหนักรอยัลเยลลี (ก.)

3.4.4 **การสร้างกราฟมาตราฐาน**

3.4.4.1 เติมสารละลายมาตราฐาน 1,2,3,4 และ 5 มล. ลงใน flask

3.4.4.2 เติม internal standard 2มล.ในแต่ละflask

3.4.4.3 ระเหย chloroform โดยใช้ก๊าซไนโตรเจนเป่า

3.4.4.4 เติม TMS reagent 0.5 มล. เขย่าให้เข้ากัน แล้วฉีดเข้าเครื่อง gas chromatography ในปริมาณ 2 ไมโครลิตร

3.4.4.5 เขียนกราฟมาตราฐานโดยใช้พื้นที่ใต้กราฟ และความเข้มข้นของสารละลายมาตราฐานเป็นแกน

3.4.5 **สภาวะของเครื่อง gas chromatography**

คอลัมน์:carrier;Chromosorb W AW-DMCS 60-80 mesh

liquid phase : 3% Silicone SE-90

อุณหภูมิของคอลัมน์ : 200 °ซ

อุณหภูมิที่เข้า : 250 °ซ

Detector : hydrogen flame ionization detector

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า(ash)

ตามวิธีของ A.O.A.C.,(1984)

3.5.1 อุปกรณ์ :

- Muffle furnace : Carbolite, MEL 11-2
- crucible

3.5.2 วิธีทดลอง :

3.5.2.1 เผา crucible ที่อุณหภูมิ 550 °ซ จนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักไว้

3.5.2.2 ชั่งรอยัลเยลลีสด 1 ก.ใส่ใน crucible

3.5.2.3 นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 °ซ

3.5.2.4 นำไปเผาต่อที่อุณหภูมิ 550 °ซ จนได้น้ำหนักคงที่

3.5.2.5 ทำให้เย็นใน desiccator ชั่งน้ำหนักที่ได้

3.5.2.6 คำนวนปริมาณเถ้า จากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{\text{ปริมาณเถ้า}}{\text{น้ำหนักรอยัลเยลลี}} \times 100$$

3.6 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (total lipid)

ตามวิธีของ A.O.A.C.,(1984)

3.6.1 อุปกรณ์ : Soxhlet apparatus

3.6.2 สารเคมี :

Diethyl ether : (A.R.grade) Merck,Germany

3.6.3 วิธีทดลอง :

3.6.3.1 อบขวดสกัดไขมันก้นกลมที่อุณหภูมิ 105 °ซ จนน้ำ

หนักคงที่บันทึกน้ำหนักไว้

3.6.3.2 บดรอยัลเยลลีที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 70 °ซ เป็นเวลา 4 ชม. จากนั้นนำไปอบต่ออีก 2 ชม.

3.6.3.3 ชั่งรอยัลเยลลี 1 ก. ห่อด้วยกระดาษกรองแล้วนำไปใส่ thimble ใน extraction tube ของ Soxhlet apparatus

3.6.3.4 ใส่ ether ประมาณ 200 มล.ในขวดก้นกลม

3.6.3.5 นำไป reflux บน heating mantleใช้อุณหภูมิปานกลาง โดยให้อัตราการกลั่นของ diethyl ether 2-3 หยด/วินาที เป็นเวลา 16 ชม.

3.6.3.6 ระเหยเอา diethyl ether ออกจากขวดก้นกลมนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

3.6.3.7 ทำให้เย็นใน desiccator

3.6.3.8 ชั่งน้ำหนักขวดก้นกลม

3.6.3.9 คำนวณปริมาณไขมัน จากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักขวดก้นกลม+ไขมัน}) - \text{น้ำหนักขวดก้นกลม}}{\text{น้ำหนักรอยัลเยลลี}} \times 100$$

4. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ CRD และDuncan's New Multiple Range Test สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ เถ้า และ10-HDA ทำ 2 ซ้ำ การวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีน ไขมัน และความเป็นกรด ทำ 3 ซ้ำ และการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ทำ 5 ซ้ำ

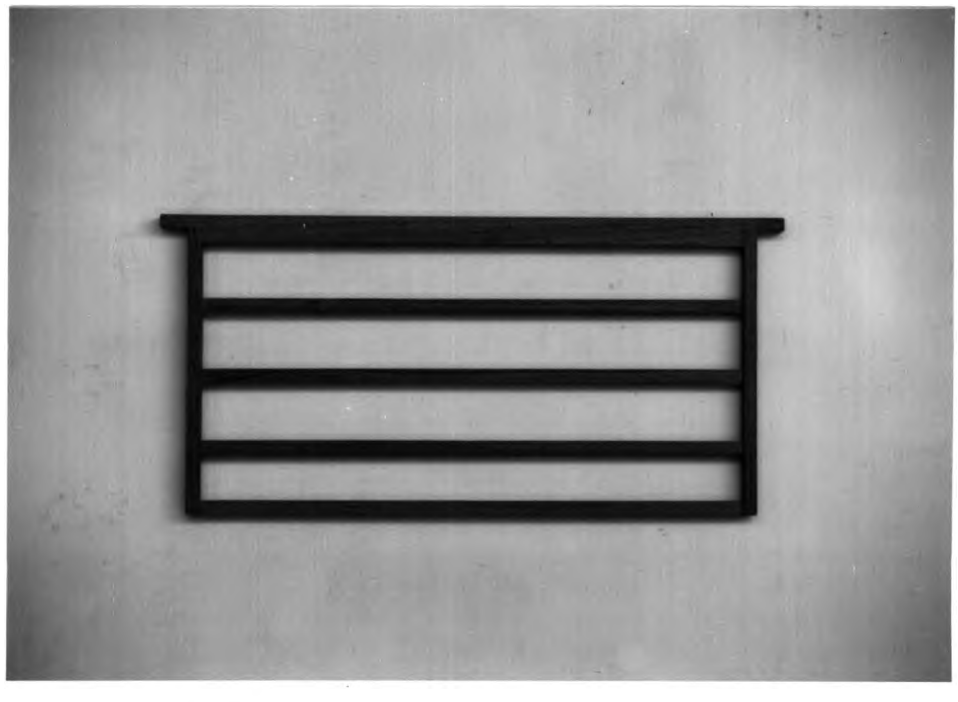
5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำปริมาณสารที่ได้ในแต่ละเดือนไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS

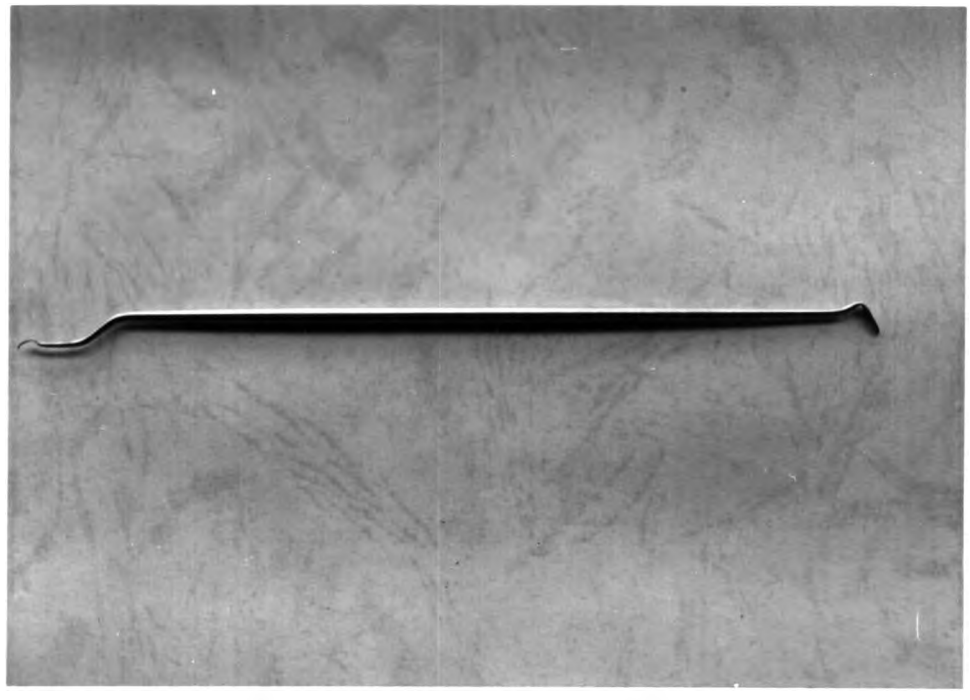
การศึกษาเชิงเศรษฐศาสตร์เพื่อผลิตรอยัลเยลลีจากผึ้งโพรงไทยในเชิงพาณิชย์

นำข้อมูลจากการศึกษาปัจจัยและวิธีผลิตรอยัลเยลลีจากผึ้งโพรงไทย และข้อมูลจากการศึกษาคุณภาพของรอยัลเยลลีแช่แข็งจากผึ้งโพรงไทย มาทำการวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์เพื่อผลิตรอยัลเยลลีจากผึ้งโพรงไทยในเชิงพาณิชย์ ซึ่งรายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.

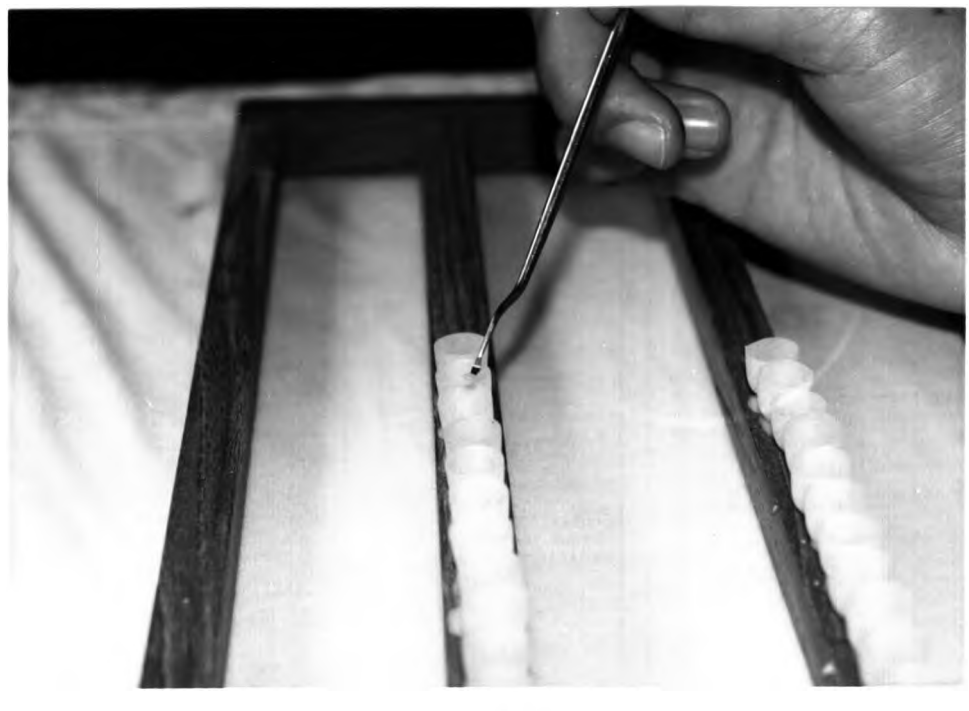
หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



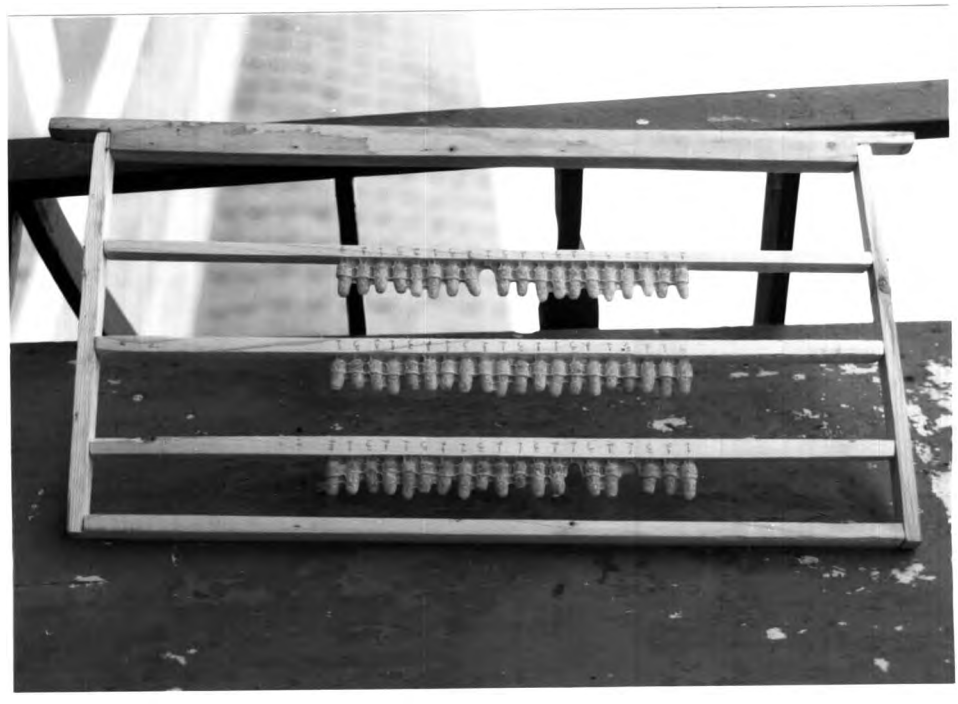
ภาพที่ 3.1 คอนสำหรับผลิตรอยัลเยลลี(คอนเพาะ)



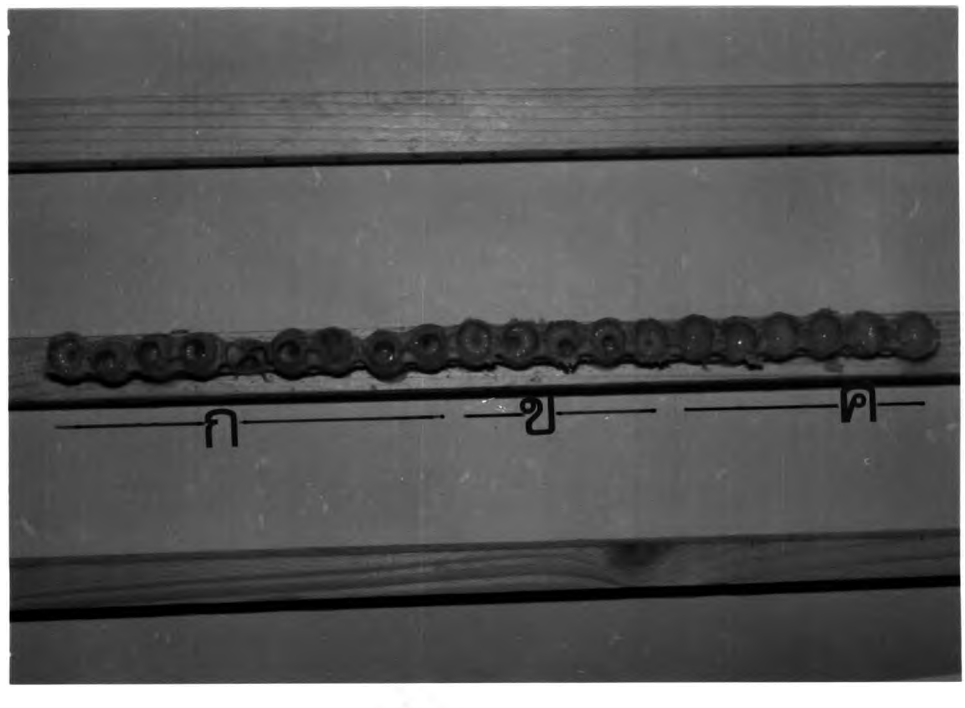
ภาพที่ 3.2 อุปกรณ์สำหรับย้ายตัวอ่อนซึ่งทำด้วยโลหะ



ภาพที่ 3.3 การย้ายตัวหนอนผึ้งงานลงในถ้วยเพาะไขผึ้ง



ภาพที่ 3.4 ถ้วยเพาะไขผึ้งหลังจากย้ายตัวหนอนเป็นเวลา 3 วัน

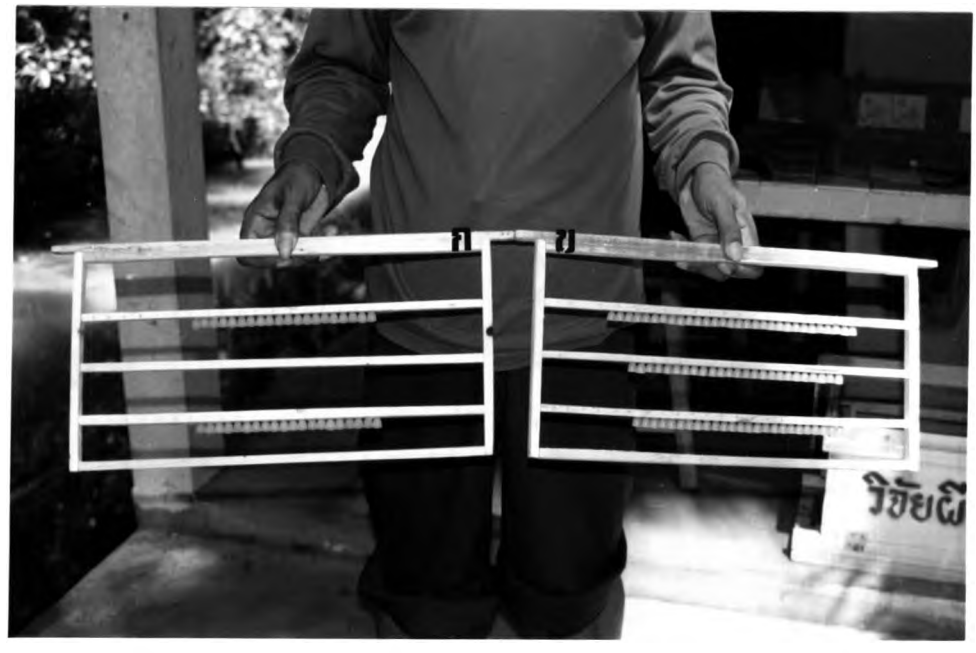


ภาพที่ 3.5 ถ้วยเพาะไขผึ้งหลังจากย้ายตัวหนอนเป็นเวลา 3 วัน

ก) ถ้วยเพาะก่อนใช้ปากคีบเปิดปากถ้วย

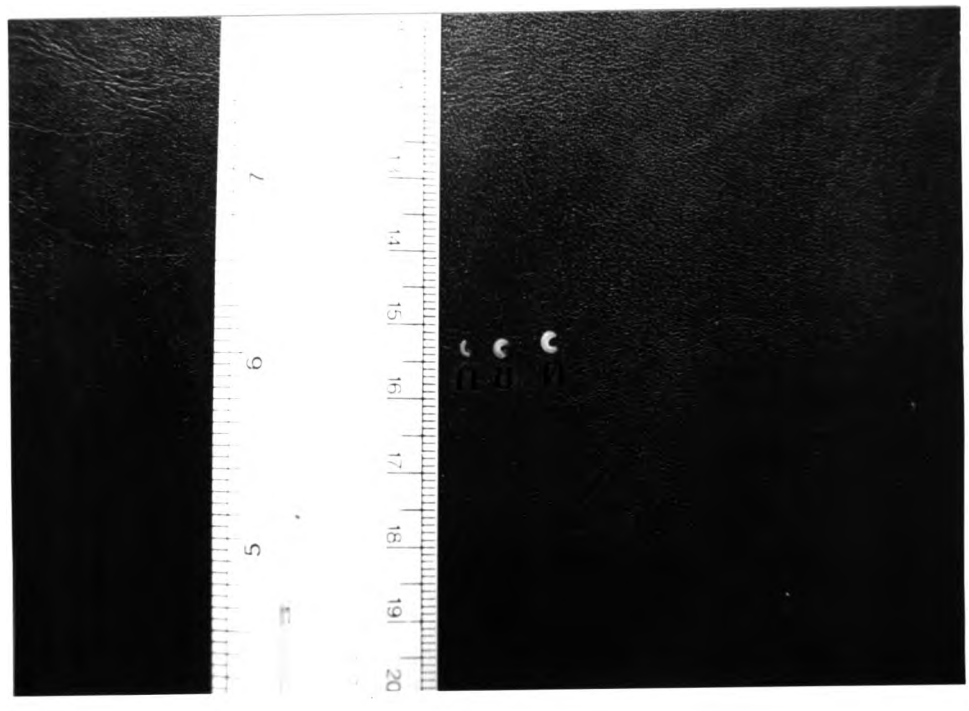
ข) ตัวหนอนที่อยู่ในถ้วยเพาะ

ค) รอยัลเยลลีที่อยู่ในถ้วยเพาะ



ภาพที่ 3.6 คอนเพาะที่ติดถ้วยเพาะ 40 (ก) และ 80 (ข) ถ้วย

ภาพที่ 3.7 การใช้คอนดักแด้คั่นระหว่างคอนเพาะ ในกรณีที่ใช้คอนเพาะ 2 คอนต่อรัง



ภาพที่ 3.8 ตัวหนอนผึ้งงานของผึ้งโพรงไทยอายุ <1(ก), 1-2(ข) และ 2-3 (ค)วัน