ผลของการเก็บรักษาพรอพอลิสของผึ้งชันโรงต่อปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Effect of Storage of Stingless Bee Propolis on the Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antiradical Activity

อิมรอน มีชัย (Imron Meechai)[1],* คอรีเยาะ มาฮามะ (Khoreeyoh Mahama)**
อิสมะแอ เจ๊ะหลง (Isma-ae Chelong)*** อัชอารีย์ สุขสุวรรณ (Acharee Suksuwan)****

(Received: *January 31, 2020;* Revised: *May 9, 2020;* Accepted: *May 13, 2020)*

บทคัดย่อ

พรอพอลิสเป็นผลิตภัณฑ์ที่ถูกสร้างโดยผึ้งชันโรงซึ่งประกอบด้วยกลุ่มสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น กลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ในสมัยก่อนพรอพอลิสถูกใช้เป็นยารักษาโรคในช่องปากและสมานแผล ในปัจจุบันพรอพอลิสถูกนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อจำหน่ายหลายชนิด เช่น ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและสบู่ อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยวต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมของพรอพอลิสของผึ้งชั้นโรง ในการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาผลความแตกต่างของสภาวะการเก็บรักษาประกอบด้วยลักษณะการบรรจุและอุณหภูมิ ของพรอพอลิสของผึ้งชันโรงต่อปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยพรอพอลิสจากผึ้งชันโรงชนิด *Geniotrigono thorocica* ถูกสกัดด้วยวิธีรีฟลักซ์ในตัวทำละลายเอทานอลและวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method, Aluminium Chloride Colorimetry method และ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ตามลำดับ ก่อนและหลังการเก็บรักษาเพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเก็บรักษาพรอพอลิสที่บรรจุแบบสุญญากาศและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -15 ถึง -10 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เหมาะต่อการเก็บรักษา การวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าลักษณะบรรจุภัณฑ์และและอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ABSTRACT

Propolis is a product that is produced by the stingless bee which consists of antioxidants, phenolic compounds and flavonoids. In the past, propolis has been used as traditional medicine for oral healing and healing. Currently, propolis is processed into many products for sale, such as dietary supplements and soaps. However, The optimum conditions for post-harvest storage have not been investigated on the antioxidant activity and the total phenolic and flavonoid contents of propolis stingless bee. In this study, the effects of different storage conditions, including packaging and temperature, of propolis stingless bee on total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity were studied. Before and after storages, the propolis of *Geniotrigono thorocica* was extracted by reflux method with the ethanol solvent and analyzed for total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity by Folin-Ciocalteu method, Aluminum Chloride Colorimetry method and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) respectively, The results indicated that the vacuum packing and temperature at -15 to -10 °C is an optimum condition for storage. The data displayed that storage condition affected on the phytochemical contents and antioxidant activity.

คำสำคัญ: พรอพอลิส ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ผลของการเก็บรักษา

Keywords: Propolis, Antiradical activity, Effect of Storge

[1]*Corresponding author: imron.me@yru.ac.th*

**อาจารย์ สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา*

***นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา*

****สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา*

*****นักวิจัย ศูนย์วิทยาศาสตร์ฮาลาล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*

บทนำ

ชันโรงเป็นแมลงขนาดเล็กที่มีพฤติกรรมเก็บน้ำหวานจากดอกไม้และละอองเกสร (เรณู) มาใช้เป็นอาหาร คล้ายผึ้งแต่ชันโรงไม่มีเหล็กในจึงไม่สามารถต่อยได้และชันโรงยังให้ผลผลิตที่เหมือนกับผึ้งได้แก่ น้ำผึ้ง พรอพอลิส และเกสรผึ้ง คำว่าชันโรงเป็นชื่อที่เรียกจากพฤติกรรมการเก็บชันของแมลงชนิดนี้ส่วนการจำแนกทางวิทยาศาสตร์นั้น ชันโรงถูกจัดไว้ดังนี้วงศ์ (Family) Apidae วงศ์ย่อย (Subfamily) Apinae ไทร์บ (Tribe) Meliponini [1-3]

พรอพอลิสเป็นสารเหนียวหรือยางเหนียวๆ ซึ่งชันโรงเก็บมาจากพืชอาจจะเป็นสารหลั่งจากพืชหรือตามรอยแยกจากเปลือกของต้นไม้จะมีลักษณะแข็งเมื่ออุณหภูมิต่ำและเหนียวขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ชันโรงจะใช้เพื่อใช้ปิดรอยโหว่ของรังเลี้ยงและห่อหุ้มศัตรูที่ถูกผึ้งฆ่าตายในรังแต่ไม่สามารถนำออกไปทิ้งนอกรังได้เพื่อไม่ให้เกิดการเน่าเหม็นในรัง โดยพรอพอลิสในแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกันเนื่องจากพืชประจำถิ่นในแต่ละท้องถิ่นมีความต่างกัน [4-6] ดังนั้นองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางเภสัชกรรมของพรอพอลิสในแต่ละพื้นที่จึงมีแตกต่างกันไปด้วย จากรายงานวิจัยที่ผ่านมาคุณสมบัติของพรอพอลิสด้านฤทธิ์ชีวภาพที่มักถูกนำเสนอคือฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุของการเกิดโรคหลายชนิด [6-9] และยังมีรายงานว่าพรอพอลิสของผึ้งชันโรงชนิด *Geniotrigono thorocica* ให้ค่า IC_{50} ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 53 µg/mL [10] สารสำคัญที่ถูกพบในพรอพอลิสประกอบด้วยสารหลายกลุ่ม เช่น สารกลุ่มพลาโวนอย์ ได้แก่ naringenin, 2,5-dihydroxy-7-methoxyflavanone, apigenin, kaempferol และ qurecetin เป็นต้น สารกลุ่มกรดฟีนอลิก ได้แก่ benzoic acid, caffeic acid, cinnamic acid และ gallic acid เป็นต้น และกลุ่มอื่นๆ เช่น เทอร์ปีนอยด์ สารประกอบไฮโดรคาร์บอน กรดไขมัน กรดอะมิโนและน้ำตาล [11] และจากรายงานที่ผ่านมาพรอพอลิสของผึ้งชันโรงชนิดปากหมู (*Geniotrigono thorocica*) พบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ สารกลุ่ม คูมาริน สารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ และสารกลุ่มน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี Thin layer chromatography (TLC) [10, 12] ในปัจจุบันพรอพอลิสที่ได้จากชันโรงถือว่าเป็นที่สนใจในกลุ่มของนักวิจัยและนักธุรกิจเพื่อต้องการที่จะนำไปต่อยอดและพัฒนาให้ได้ผลิตภัณฑ์ เช่น ยารักษาโรค สบู่ และอาหารเสริม เป็นต้น เนื่องจากพรอพอลิสเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติดังนั้นจึงมีความปลอดภัยมากกว่าสารเคมี และในอดีตพรอพอลิสถูกนำมาใช้เป็นยารักษาโรคต่างๆ เช่น ใช้เป็นยาสมานแผล รักษาการติดเชื้อในช่องปาก เป็นต้น [1]

แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการเก็บรักษาพรอพอลิสอย่างถูกต้องและเหมาะสมที่สุดทั้งสภาวะและระยะเวลา จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่จะศึกษาหาวิธีการเก็บรักษาพรอพอลิสของผึ้งชันโรงซึ่งมีความสำคัญต่อการสนับสนุนการเลี้ยงและการใช้ประโยชน์หลายด้าน และยังสามารถเป็นข้อมูลต่อผู้ที่มีต้องการจะเก็บพริพอลิสในระยะยาว งานวิจัยนี้มุ่งเน้นในการเก็บรักษาสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพรอพอลิสจากชันโรงชนิดปากหมู (*Geniotrigono thorocica*) โดยศึกษาเปรียบเทียบการเก็บรักษา 1) รูปแบบการบรรจุ 2) อุณหภูมิ 3) ระยะเวลา และ 4) แสง ในการเก็บรักษาพรอพอลิสของผึ้งชันโรงต่อปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการวิจัย

1. สภาวะที่ใช้ในการเก็บรักษาพรอพอลิสและการเตรียมตัวอย่างในการทดสอบ

บรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาพรอพอลิสของผึ้งชันโรงจะถูกเก็บในถุงพลาสติกชนิดพอลิเอทีลีน (Polyethylene: PE) โดยแบ่งรูปแบบการบรรจุเป็น 2 แบบคือ แบบสุญญากาศ (vacuum) และแบบไม่สูญญากาศ (non-vacuum) ขนาดความกว้าง 2 นิ้ว ความยาว 3 นิ้ว โดยบรรจุพรอพอลิสลงไปอย่างละ 4 กรัม ดังภาพที่ 1 อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา

ประกอบด้วยอุณหภูมิในช่วง -15 ถึง -10 องศาเซลเซียส (A) ในช่วง 2 ถึง 8 องศาเซลเซียส (B) และในช่วง 30 ถึง 35 องศาเซลเซียส (C) ซึ่งในช่วงอุณหภูมิ 30 ถึง 35 องศาเซลเซียส ตัวอย่างจะถูกแบ่งเก็บเป็น 2 แบบ คือพื้นที่ปราศจากแสงแดด (D) และพื้นที่ทั่วไปที่สัมผัสแสงแดด (L) ส่วนระยะเวลาในการเก็บ ได้แก่ 0-90 วัน (d) โดยพรอพอลิสก่อนการเก็บรักษา (Raw material) และหลังการเก็บรักษาตามระยะเวลาจะถูกวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบความแตกต่างแต่ละสภาวะและหาสภาวะที่เหมาะต่อการเก็บรักษา

2. การสกัดสารสกัดหยาบจากพรอพอลิสเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณพฤกษเคมีรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามวิธีการของ Pellati et al. (2013) [13]

นำตัวอย่างพรอพอลิสกับเอทานอลในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (กรัม:มิลลิลิตร) นำไปสกัดด้วยวิธีการรีฟลักซ์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และนำไปแยกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 4000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการกรองด้วยกระดาษกรอง No.4 แยกสารละลายออกและระเหยแห้งภายใต้สุญญากาศด้วยเครื่อง Rotary evaporator

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) [3]

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใช้สารวิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน โดยเตรียมสารละลายวิตามินซีที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายเอทานอล และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 10 5 2.5 1.25 และ0.625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายเอทานอล ส่วนสารละลายตัวอย่างเตรียมที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายเอทานอล ในการทดสอบเติมสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.00294 โมลต่อลิตร ในตัวทำละลายเอทานอล ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และทิ้งไว้ในที่มืด 15 นาทีจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 516 นาโนเมตรด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer แต่ละตัวอย่างจะถูกทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นบันทึกผลและคำนวณหาร้อยละการยับยั้ง (% Inhibition) จากสูตรจากสมการที่ (1) และรายงานผลให้อยู่ในรูปมิลลิกรัมวิตามินซีเทียบเท่า 100 กรัม ของสารสกัด (mg Vit.CE/100g extract) โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน

$$\% \text{ Inhibition} = ((Abs_{control} - Abs_{sample})/Abs_{conrtol}) \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ $Abs_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่ไม่เติมสารตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน

Abs_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาที่เติมสารตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน

4. การทดสอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu [14]

ในการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมใช้สารกรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นที่ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายเอทานอล เจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่างๆได้แก่ 6.25 12.5 25 50 และ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายเอทานอล และเตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายเอทานอล ในการทดสอบเติมสารละลายโฟลิน ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติม 2.5 มิลลิลิตร สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร ในน้ำปราศจากไอออน เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรด้วยเครื่อง UV vis spectrophotometer และบันทึกผล แต่ละตัวอย่างจะถูกทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง และรายงานผลให้อยู่ในรูปมิลลิกรัมกรดแกลลิกเทียบเท่า 100 กรัม ของสารสกัด (mg GAE/100g extract) โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน

5. การทดสอบฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetry [14]

การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมใช้สารควอซิทินเป็นสารมาตรฐาน โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นที่ 40 ไมโครกรัมต่อลิตร จากนั้นเจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 1.2 5 2.5 50 20 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายเอทานอล และเตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายเอทานอล ในการทดสอบเติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายมาตรฐานหรือสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 437 นาโนเมตรด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer และบันทึกผล แต่ละตัวอย่างจะถูกทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง และรายงานผลให้อยู่ในรูปมิลลิกรัมควอซิทินเทียบเท่า 100 กรัม ของสารสกัด (mg QE/100g extract) โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน

6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและหาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม จะทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (n = 3) นำผลที่ได้คิดค่าเฉลี่ยและหาค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของการวัด (Standard deviation; SD) และวิเคราะห์สถิติโดยใช้ แบบ paired t-test ($p < 0.05$) เพื่อเทียบความแตกต่าง

ผลและอภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาผลของการเก็บรักษาพรอพอลิสในบรรจุแบบพลาสติกพอลิเอทิลีนแบบสูญญากาศและไม่สูญญากาศอุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ พบว่ามีผลต่อคุณสมบัติทางเคมีของพรอพอลิส โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมแตกต่างกัน ซึ่งแสดงผลในรูปค่าเฉลี่ย ± เบี่ยงเบนมาตรฐานดังตารางที่ 1-3

โดยระยะเวลาในการเก็บรักษาพรอพอลิสมีผลให้ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของทุกตัวอย่างมีการลดลงตามระยะเวลาในการเก็บ ดังตารางที่ 1 สำหรับปริมาณฟีนอลิกรวมบางตัวอย่างเท่านั้นที่ไม่มีการลดลงในช่วงระยะหนึ่ง ประกอบไปด้วยตัวอย่าง non-vacuum-A vacuum-A non-vacuum-B vacuum-B และ vacuum-C-L ดังตารางที่ 2 ส่วนปริมาณฟลาโวนอยด์รวมพบว่าทุกตัวอย่างที่มีไม่มีการลดลงในช่วงระยะหนึ่ง ดังตารางที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) อย่างไรก็ตามพบว่าตัวอย่าง vacuum-A ให้ค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าตัวอย่างอื่นถึงแม้ว่าจะมีอัตราการลดลงของฤทธิ์และองค์ประกอบทางเคมี จากกราฟที่ 1 ซึ่งเป็นกราฟแสดงการลดลงของค่าต่างๆ ตามระยะเวลาการเก็บของตัวอย่าง vacuum-A และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นปริมาณฟีนอลิกรวมของการเก็บรักษาระยะ 7 กับ 14 วันที่มีค่าคงที่ และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของการเก็บรักษาระยะ 14 กับ 30 วัน และระยะ 45 กับ 60 ที่มีค่าคงที่ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p <0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิเท่ากันแต่รูปแบบการบรรจุพรอพอลิสแตกต่างกันของแต่ละตัวอย่างพบว่ารูปแบบการบรรจุแบบสูญญากาศจะให้ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p <0.05$) ดังกราฟที่ 2 ซึ่งเป็นกราฟเปรียบเทียบตัวอย่างที่บรรจุในรูปแบบไม่สุญญากาศ (non-vacuum-A) และแบบสุญญากาศ (vacuum-A) ซึ่งอากาศและความชื้นอาจมีผลต่อการเปลี่ยนองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

นอกจากนี้ในแต่ละระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกันพบว่าที่อุณหภูมิต่ำจะมีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมากกว่าที่อุณหภูมิสูง ดังกราฟที่ 3 ซึ่งเป็นกราฟแสดงผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาของตัวอย่างทั้งหมดในระยะเวลา 7 วัน ดังนั้นที่อุณหภูมิต่ำมีผลในการเก็บรักษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ที่ดีกว่า

จากการศึกษาผลของการสัมผัสแสงแดดของตัวอย่างเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บในพื้นที่ปราศจากแสงแดดที่อุณหภูมิเท่ากันพบว่าปริมาณปริมาณฟีนอลิกรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของตัวอย่างที่เก็บในพื้นที่ปราศจากแสงแดดมีค่าที่มากว่า แต่พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่าที่น้อยกว่า

จากผลการศึกษาครั้งนี้อาจกล่าวได้ว่ารูปแบบในการบรรจุตัวอย่างแบบสุญญากาศและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ-15 ถึง -10 องศาเซลเซียส (vacuum-A) มีความคงตัวของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมได้ดีกว่าสภาวะอื่นๆ ถึงแม้ว่าการเก็บระยะในระยะเวลานาน 90 วัน ให้ผลของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าการบรรจุตัวอย่างแบบสุญญากาศและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 ถึง 35 องศาเซลเวียส อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับระยะเวลาการเก็บอื่นและยังคงให้ค่าอื่นๆ ที่มากว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากงานวิจัยของ Vansavang et al. (2016) และ Chitrattha (2019) ความชื้นหรือน้ำมีผลให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันและไฮโดรไลสิสได้ รวมถึงยังทำให้เชื้อจุลชีพเจริญเติบโตได้ดี [15-16] ดังนั้นจึงควรเลือกรูปแบบการบรรจุให้เหมาะสมเพื่อป้องกันไม่ให้มีปริมาณความชื้นน้อยที่สุดและเก็บที่อุณหภูมิต่ำเพื่อลดการเร่งของปฏิกิริยาเข้าไปสัมผัสกับตัวอย่าง ที่อาจส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีที่อยู่ในพรอพอลิส

สรุปผลการวิจัย

ในการวิเคราะห์ปริมาณพฤกษเคมีรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพรอพอลิสของผึ้งชันโรงชนิดปากหมู (*Geniotrigono thorocica*) พบว่าผลของการเก็บรักษาพรอพอลิสของผึ้งชันโรงในบรรจุภัณฑ์อุณหภูมิและระยะเวลาที่แตกต่างกัน ให้ค่าการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน ซึ่งพบว่าตัวอย่างที่เก็บในรูปแบบสุญญากาศในบรรจุภัณฑ์ชนิดพลาสติกพอลิเอทิลีนในอุณหภูมิ -15 ถึง -10 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาองค์ประกอบทางเคมีได้ดีที่สุด

ดังนั้นหากเกษตรกรและผู้สนใจที่ทำการเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรงและเก็บรักษาพรอพอลิสเพื่อรอจำหน่าย ในการเพิ่มมูลค่าและการเก็บรักษาพรอพอลิสของผึ้งชันโรงต่อปริมาณพฤกษเคมีรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพมากที่สุด โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -15 ถึง -10 องศาเซลเซียส ในรูปแบบสุญญากาศในบรรจุภัณฑ์ชนิดพลาสติกพอลิเอทิลีน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา ที่ให้การสนับสนุนในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Athikomkulchai S. Propolis: A Gift from Nature. Thai Pharmaceutical and Health Science Journal. 2008; 3(2): 286-295. Thai.
2. Boongird S. Bee Keeping with Stingless Bees. 2nd ed. Ramkhamhaeng University: Bangkok; 2015. Thai.
3. Moreno M, Isla M, Sampietro A, Vattuone M. Comparison of the free redical-scavenging acivity of propolis from several regions of Argentina. J Ethnopharmacol. 2000; 71(1-2): 109-114.
4. Fikri A, Sulaeman A, Marliyati SA, Fahrudin M. Antioxidant activity and total phenolic content of stingless bee propolis from Indonesia. J Apic Sci. 2019; 63(1): 139-147.

5. Choi YM, Noh DO, Cho SY, Suh HJ, Kim KM, Kim JM. Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. J Food Sci Technol. 2006; 39(7): 756-761.
6. Sawatthum A. Amazing of Stingless bee. 1st ed. Triple Group: Bangkok; 2013. Thai.
7. Chailertvanitkul P, Namsirikul T, Damrongrungruang T, Peerapattana J. Phenolic and flavonoids contents and antibacterial activity of ethanolic extract of propolis. Isan J Pharm Sci. 2017; 13 (3): 59-67. Thai.
8. Zin NB, Azmin A, Mohd rodi MM, Mohd KS. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Stingless Bee Propolis from Different Extraction Methods. Int J Eng Technol. 2018; 7(43): 90-95.
9. Kasote DM, Pawar MV, Gundu SS, Bhatia R, Nandre VS, Jagtap SD, Mahajan SG, Kulkarni MV. Chemical profiling, antioxidant, and antimicrobial activities of Indian stingless bees propolis samples. J Apic Res. 2019; 25(4): 617-625.
10. Badiazaman AAM, Zin NB, Annisava AR, Nafi NEM, Mohd KS. Phytochemical screening and antioxidant properties of stingless bee *Geniotrigona thoracica* propolis. Mal. J Fund Appl Sci. 2019; Special Issue: 330-335.
11. Marcucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie. 1995; 26(2): 83-99.
12. Ibrahim N, Mohd Niza NFS, Mohd Rodi MM, Zakaria AJ, Ismail Z, Mohd KS. Chemical and biological analyses of Malaysian stingless bee propolis extract. Malaysian J Anal Sci. 2016; 20(2): 413 – 422.
13. Pellati F, Prencipe FP, Bertelli D, Benvenuti S. An efficient chemical analysis of phenolic acids and flavonoids in raw propolis by microwave-assisted extraction combined with high-performance liquid chromatography using the fused-core technology. J Pharm Biomed Anal. 2013; 81-82: 126-132.
14. Tafinine ZM, Ouchemouckh S, Tamendjari A. Antioxidant activity of some algerian honey and propolis. Ind Crops Prod. 2016; 88(2016): 85-90.
15. Vansavang V, Utto W, Onsaard E, Boonyaputipong W, Maweang M. Effects of rough rice storage in different packages, storage temperature and periods on qualities of parboiled germinated rice. King Mongkut's Agricultural Journal. 2016; 34(3): 73-85. Thai.
16. Chitrattha S. Drug stability [Internet]. 2019 [Updated 2018 Jul; cited 2019 Feb]. Available from: http://cstkh.edu.ps/staff/mabujamee/wpcontent/uploads/2010/10/Unit-4-Drug-Stability.pdf

ภาพที่ 1 รูปแบบการบรรจุตัวอย่างแบบไม่สุญญากาศ (a) และแบบสูญญากาศ (b)

ตารางที่ 1 ผลของการเก็บรักษาพรอพอลิสในสภาวะที่แตกต่างกันต่อปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Days	Antiradical activity (mg Vit.CE/ 100g extract ± SD)								
	Sample								
	Raw material	non-vacuum-A	vacuum-A	non-vacuum-B	vacuum-B	non-vacuum-C-D	vacuum-C-D	non-vacuum-C-L	vacuum-C-L
0	2184.32 ± 1.98								
7		1788.48 ± 1.17^{a}	2151.24 ± 2.98^{a}	1657.65 ± 1.17^{a}	1680.96 ± 0.56^{a}	1739.04 ± 2.45^{a}	1866.67 ± 2.66^{a}	1818.74 ± 2.34^{a}	2147.86 ± 1.12^{a}
14		1769.12 ± 1.17^{b}	2114.96 ± 1.41^{b}	1639.42 ± 2.34^{b}	1666.49 ± 2.83^{b}	1715.36 ± 0.97^{b}	1838.29 ± 1.49^{b}	1798.06 ± 1.81^{b}	2113.27 ± 0.32^{b}
30		1736.22 ± 4.25^{c}	2087.33 ± 1.41^{c}	1626.26 ± 2.58^{c}	1642.43 ± 1.41^{c}	1692.80 ± 2.03^{c}	1809.34 ± 0.86^{c}	1770.43 ± 1.98^{c}	2071.73 ± 1.12^{c}
45		1695.62 ± 8.86^{d}	2041.66 ± 1.72^{d}	1593.75 ± 1.17^{d}	1612.54 ± 1.17^{d}	1656.15 ± 1.49^{d}	1767.42 ± 0.86^{d}	1750.69 ± 1.17^{d}	2026.43 ± 1.17^{d}
60		1644.12 ± 1.72^{e}	1998.43 ± 4.51^{e}	1574.01 ± 0.86^{e}	1588.67 ± 5.56^{e}	1618.56 ± 3.20^{e}	1731.52 ± 4.79^{e}	1717.99 ± 1.41^{e}	1969.11 ± 2.25^{e}
90		1548.45 ± 1.49^{f}	1880.95 ± 3.83^{f}	1506.34 ± 4.79^{f}	1523.26 ± 1.17^{f}	1556.34 ± 4.81^{f}	1675.32 ± 1.95^{f}	1691.30 ± 1.98^{f}	1906.70 ± 4.30^{f}

หมายเหตุ - Raw material: ตัวอย่างสด, non-vacuum-A: ตัวอย่างที่บรรจุแบบไม่สูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ -15 ถึง -10 °C, vacuum-A: ตัวอย่างที่บรรจุแบบสูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ -15 ถึง -10 °C, non-vacuum-B: ตัวอย่างที่บรรจุแบบไม่สูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 2 ถึง 8 °C, vacuum-B : ตัวอย่างที่บรรจุแบบสูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 2 ถึง 8 °C, non-vacuum-C-D: ตัวอย่างที่บรรจุแบบไม่สูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 30 ถึง 35 °C เก็บในที่ปราศจากแสงแดด, vacuum-C-D: ตัวอย่างที่บรรจุแบบสูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 30 ถึง 35 °C เก็บในที่ปราศจากแสงแดด, non-vacuum-C-L: ตัวอย่างที่บรรจุแบบไม่สูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 30 ถึง 35 °C เก็บพื้นที่ทั่วไปที่สัมผัสแสงแดด, vacuum-C-L: ตัวอย่างที่บรรจุแบบสูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 30 ถึง 35 °C เก็บพื้นที่ทั่วไปที่สัมผัสแสงแดด

- ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในคอลัมเดียวกันบ่งนี้ถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 2 ผลของการเก็บพรอพอลิสในสภาวะที่แตกต่างกันต่อปริมาณฟีนอลิกรวม

Days	Total phenolic content (mg GAE/ 100g extract ± SD)								
	Sample								
	Raw material	non-vacuum-A	vacuum-A	non-vacuum-B	vacuum-B	non-vacuum-C-D	vacuum-C-D	non-vacuum-C-L	vacuum-C-L
0	5636.78 ± 139.46								
7		4426.15 ± 2.17^{a}	5111.49 ± 2.77^{a}	3511.21 ± 6.73^{a}	3789.66 ± 1.72^{a}	3293.68 ± 11.64^{a}	4310.06 ± 1.32^{a}	2952.59 ± 7.06^{a}	3404.89 ± 8.64^{a}
14		4394.25 ± 7.02^{b}	5113.72 ± 1.86^{a}	3481.90 ± 1.49^{b}	3776.15 ± 4.75^{b}	3272.41 ± 3.11^{b}	4288.79 ± 2.59^{b}	2942.53 ± 8.97a^{b}	3404.31 ± 3.76^{a}
30		4377.30 ± 3.03^{c}	5086.21 ± 6.22^{b}	3477.87 ± 4.07^{c}	3760.29 ± 6.78^{c}	3268.97 ± 1.49^{c}	4285.92 ± 4.07^{b}	2934.77 ± 2.17^{b}	3387.64 ± 3.03^{b}
45		4362.07 ± 6.84^{d}	5066.38 ± 9.94^{c}	3473.28 ± 4.31^{c}	3760.34 ± 7.06^{c}	3256.61 ± 3.89^{d}	4259.77 ± 3.48^{c}	2930.75 ± 1.32^{c}	3378.45 ± 3.11^{c}
60		4355.75 ± 8.72^{d}	5048.56 ± 3.48^{d}	3447.13 ± 1.79^{d}	3741.09 ± 3.03^{d}	3246.26 ± 2.17^{e}	4255.75 ± 5.74^{c}	2925.00 ± 1.49^{d}	3364.66 ± 4.31^{d}
90		4339.37 ± 4.90^{e}	5025.29 ± 2.17^{e}	3458.05 ± 4.07^{e}	3727.01 ± 3.03^{e}	3251.44 ± 4.98^{e}	4252.30 ± 1.32^{c}	2926.44 ± 1.32^{d}	3363.511±5.20^{d}

หมายเหตุ - Raw material: ตัวอย่างสด, non-vacuum-A: ตัวอย่างที่บรรจุแบบไม่สูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ -15 ถึง -10 °C, vacuum-A: ตัวอย่างที่บรรจุแบบสูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ -15 ถึง -10 °C, non-vacuum-B: ตัวอย่างที่บรรจุแบบไม่สูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 2 ถึง 8 °C, vacuum-B : ตัวอย่างที่บรรจุแบบสูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 2 ถึง 8 °C, non-vacuum-C-D: ตัวอย่างที่บรรจุแบบไม่สูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 30 ถึง 35 °C เก็บในที่ปราศจากแสงแดด, vacuum-C-D: ตัวอย่างที่บรรจุแบบสูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 30 ถึง 35 °C เก็บในที่ปราศจากแสงแดด, non-vacuum-C-L: ตัวอย่างที่บรรจุแบบไม่สูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 30 ถึง 35 °C เก็บพื้นที่ทั่วไปที่สัมผัสแสงแดด, vacuum-C-L: ตัวอย่างที่บรรจุแบบสูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 30 ถึง 35 °C เก็บพื้นที่ทั่วไปที่สัมผัสแสงแดด

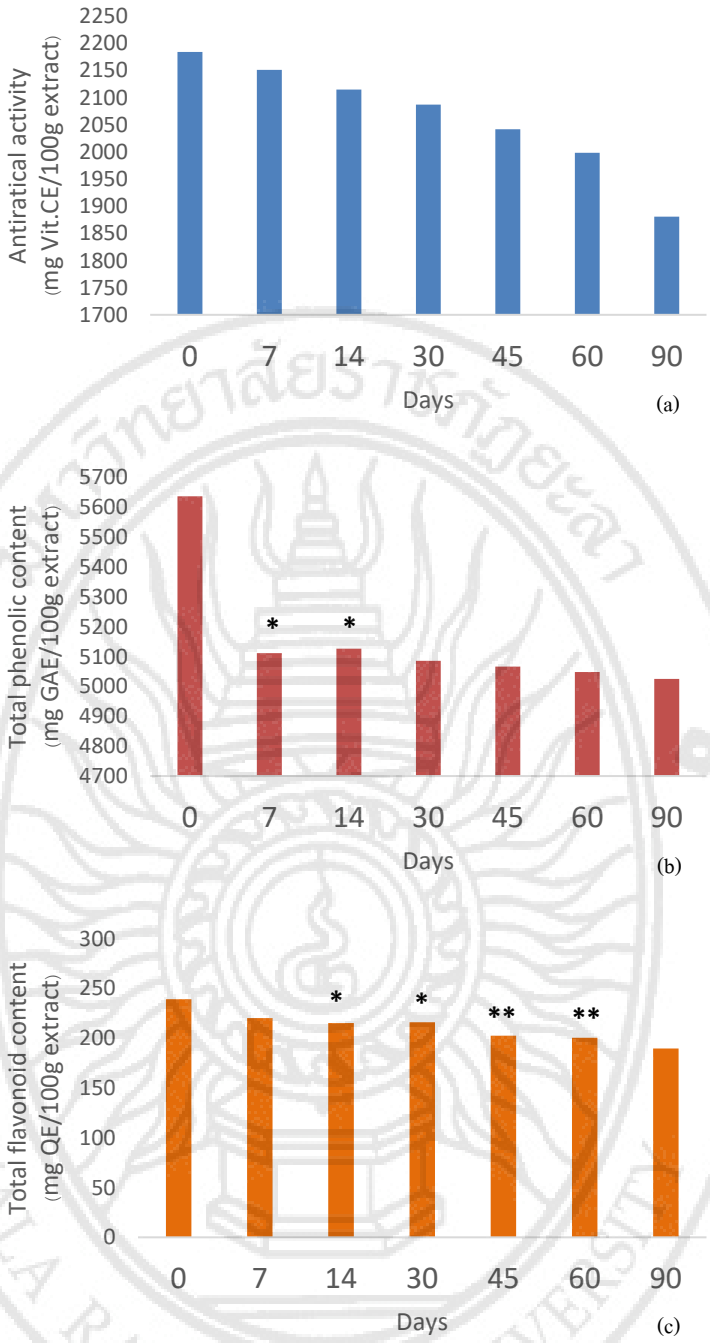
- ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในคอลัมเดียวกันบ่งนี้ถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 3 ผลของการเก็บพรอพอลิสในสภาวะที่แตกต่างกันต่อปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

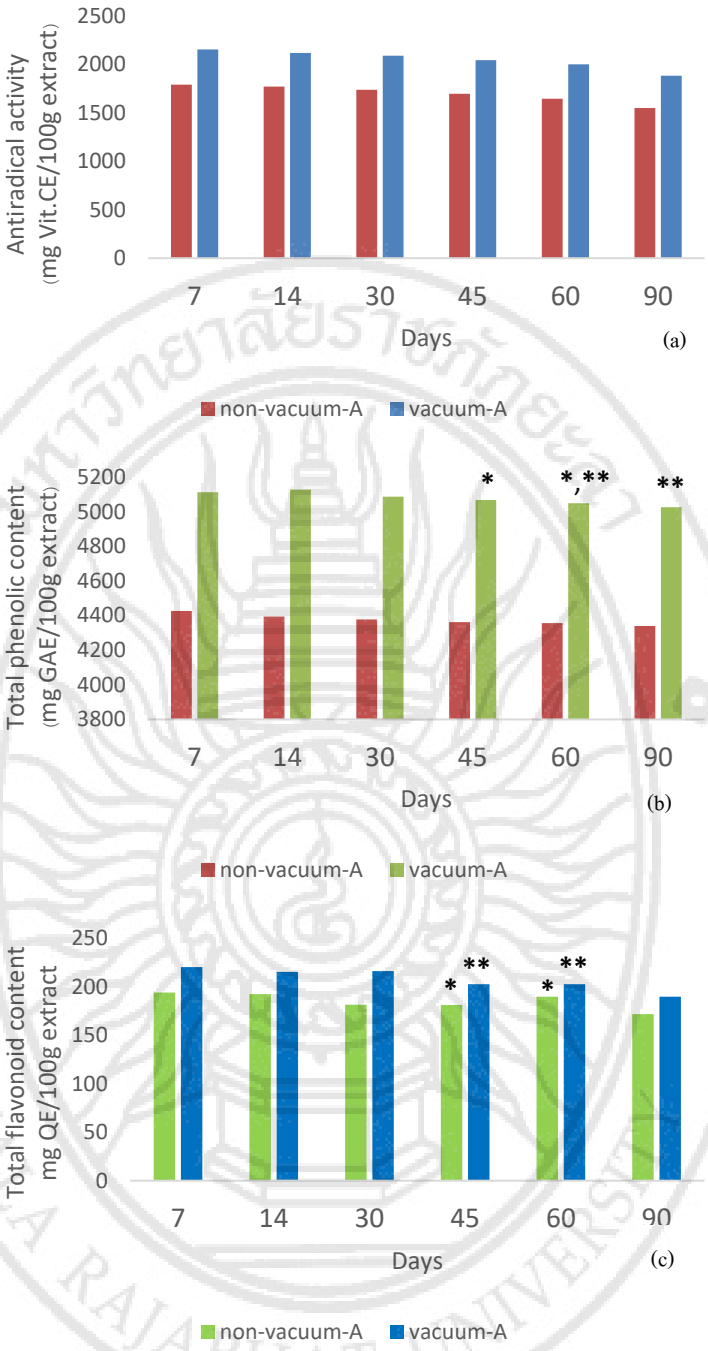
Days	Total flavonoid content (mg QE/ 100g extract ± SD)								
	Sample								
	Raw material	non-vacuum-A	vacuum-A	non-vacuum-B	vacuum-B	non-vacuum-C-D	vacuum-C-D	non-vacuum-C-L	vacuum-C-L
0	239.24 ± 0.29								
7		193.90 ± 0.29^{a}	220.25 ± 0.89^{a}	185.37 ± 1.17^{a}	207.66 ± 0.17^{a}	160.76 ± 1.45^{a}	180.04 ± 1.49^{a}	158.91 ± 1.87^{a}	160.95 ± 1.37^{a}
14		192.34 ± 0.44^{b}	215.31 ± 1.87^{b}	182.66 ± 0.73^{b}	200.87 ± 0.58^{b}	160.76 ± 1.33^{a}	170.35 ± 0.29^{b}	146.03 ± 2.54^{b}	153.00 ± 0.44^{b}
30		181.49 ± 0.17^{c}	216.09 ± 1.02^{b}	175.19 ± 0.61^{c}	193.90 ± 0.77^{c}	161.24 ± 0.34^{a}	168.41 ± 0.61^{c}	146.41 ± 0.84^{b}	153.97 ± 0.17^{b}
45		181.10 ± 0.50^{c}	202.52 ± 0.93^{c}	177.23 ± 1.87^{c}	193.22 ± 0.17^{c}	156.01 ± 0.17^{b}	151.94 ± 0.73^{d}	145.45 ± 0.73^{b}	146.71 ± 0.84^{c}
60		180.73 ± 4.71^{c}	202.52 ± 0.93^{c}	168.99 ± 0.61^{d}	193.22 ± 0.17^{c}	144.09 ± 0.67^{c}	151.94 ± 0.73^{d}	142.45 ± 0.84^{c}	144.45 ± 0.84^{d}
90		171.71 ± 0.73^{d}	189.73 ± 4.71^{d}	162.66 ± 0.73^{e}	185.08 ± 1.49^{d}	139.24 ± 0.29^{d}	146.61 ± 3.31^{e}	140.02 ± 0.73^{d}	141.76 ± 0.93^{e}

หมายเหตุ - Raw material: ตัวอย่างสด, non-vacuum-A: ตัวอย่างที่บรรจุแบบไม่สูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ -15 ถึง -10 °C, vacuum-A: ตัวอย่างที่บรรจุแบบสูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ -15 ถึง -10 °C, non-vacuum-B: ตัวอย่างที่บรรจุแบบไม่สูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 2 ถึง 8 °C, vacuum-B : ตัวอย่างที่บรรจุแบบสูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 2 ถึง 8 °C, non-vacuum-C-D: ตัวอย่างที่บรรจุแบบไม่สูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 30 ถึง 35 °C เก็บในที่ปราศจากแสงแดด, vacuum-C-D: ตัวอย่างที่บรรจุแบบสูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 30 ถึง 35 °C เก็บในที่ปราศจากแสงแดด, non-vacuum-C-L: ตัวอย่างที่บรรจุแบบไม่สูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 30 ถึง 35 °C เก็บพื้นที่ทั่วไปที่สัมผัสแสงแดด, vacuum-C-L: ตัวอย่างที่บรรจุแบบสูญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 30 ถึง 35 °C เก็บพื้นที่ทั่วไปที่สัมผัสแสงแดด

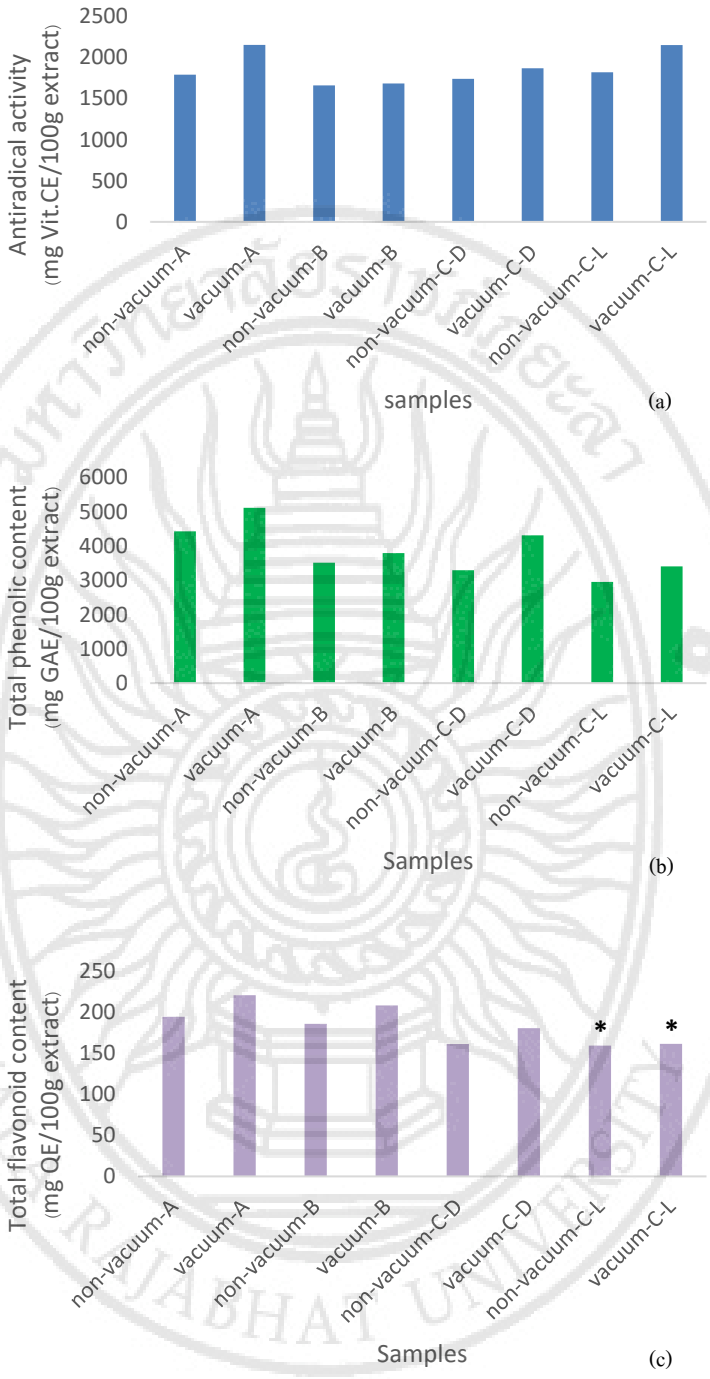
- ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างในคอลัมเดียวกันบ่งนี้ถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)



กราฟที่ 1 ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาของตัอย่าง vacuum-A ต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (a) ปริมาณฟีนอลิก (b) และฟลาโวนอยด์รวม (c); แผนภูมิแท่งที่มีสัญลักษณ์ * หรือ ** เหมือนกันที่อยู่ในแผนภูมิเดียวหมายถึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)



กราฟที่ 2 ผลของรูปแบบการบรรจุในการเก็บรักษาของตัวอย่าง non-vacuum-A และ vacuum-A ต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (a) ปริมาณฟีนอลิก (b) และฟลาโวนอยด์รวม (c) ; แผนภูมิแท่งที่มีสัญลักษณ์ * หรือ ** เหมือนกันที่อยู่ในแผนภูมิเดียวหมายถึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)



กราฟที่ 3 ผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาของตัวอย่างทั้งหมดที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 7 วัน ต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (a) ปริมาณฟีนอลิก (b) และฟลาโวนอยด์รวม (c) ; แผนภูมิแท่งที่มีสัญลักษณ์ * หรือ ** เหมือนกันที่อยู่ในแผนภูมิเดียวหมายถึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)