มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ทุนวิจัยหมวดเงินอุดหนุน (ว.1)

ประจำปีงบประมาณ 2559

เรื่อง คุณสมบัติทางเคมีกายภาพและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะดอกไม้ชนิดเดียว (unique uniflora honey) จากสมุนไพรพืชหอม

The Physicochemical Characteristics and Biologically Active Compounds of Unique Unifloral Honey from Aromatic Plants

คณะผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล ดร.กัลย์ธีรา สุนทราภิรักษ์กุล หัวหน้าโครงการ
สังกัด มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี)

ชื่อ-สกุล รศ.ดร.อรวรรณ ดวงภักดี ผู้ร่วมโครงการ
สังกัด มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี)

ชื่อ-สกุล นายปรีชา รอดอิ่ม ผู้ร่วมโครงการ
สังกัด มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี)

เดือนมีนาคม พ.ศ.2563

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ทุนวิจัยหมวดเงินอุดหนุน (ว.1)

ประจำปีงบประมาณ 2559

เรื่อง คุณสมบัติทางเคมีกายภาพและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะดอกไม้ชนิดเดียว (unique uniflora honey) จากสมุนไพรพืชหอม

The Physicochemical Characteristics and Biologically Active Compounds of Unique Unifloral Honey from Aromatic Plants

คณะผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล ดร.กัลย์ธีรา สุนทราภิรักษ์กุล หัวหน้าโครงการ
สังกัด มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี)

ชื่อ-สกุล รศ.ดร.อรวรรณ ดวงภักดี ผู้ร่วมโครงการ
สังกัด มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี)

ชื่อ-สกุล นายปรีชา รอดอิ่ม ผู้ร่วมโครงการ
สังกัด มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี)

เดือนมีนาคม พ.ศ.2563

คุณสมบัติทางเคมีกายภาพและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะดอกไม้ชนิดเดียว (unique uniflora honey) จากสมุนไพรพืชหอม

[1]กัลย์ธีรา สุนทราภิรักษ์กุล [1]อรวรรณ ดวงภักดี [1]ปรีชา รอดอิ่ม

บทคัดย่อ

ประเทศไทยมีความเหมาะสมทุกด้านในการเลี้ยงผึ้งเพื่อผลิตน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะ เนื่องจากมีความหลากหลายของชนิดผึ้งพื้นเมือง ซึ่งมีถึง 4 ชนิด คือ ผึ้งโพรง (*Apis cerana*) ผึ้งหลวง (*Apis dorsata*) ผึ้งมิ้ม (*Apis florea*) และผึ้งมิ้มเล็ก (*Apis andreniformis*) โดยเฉพาะผึ้งมิ้มเป็นแมลงผสมเกสรที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถปรับตัวได้ดี มีโรคและศัตรูธรรมชาติน้อย รวมทั้งมีความหลากหลายของพรรณไม้ในป่าเขตร้อนและสมุนไพรพืชหอมที่ส่งผลให้ความหลากหลายของสารชีวภาพมีสูง สมุนไพรพืชหอมเป็นอาหารของผึ้งโดยเป็นแหล่งให้น้ำหวานและเกสร มีสรรพคุณทางยาในด้านการบำรุงหัวใจ บำรุงโลหิต แก้ท้องเสีย ปวดหัว เจ็บคอ ขับเสมหะ และมีกลิ่นหอมที่มีเอกลักษณ์เฉพาะชนิด การวิจัยในเรื่องน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรชนิดต่างๆมีรายงานก่อนหน้านี้ แต่ยังไม่มีรายงานการวิจัยของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรพืชหอม อันได้แก่ ดอกดาวกระจาย ดอกเสี้ยว ดอกพิกุล ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะจากดอกไม้สมุนไพรพืชหอมของไทย 3 ชนิด ได้แก่ น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล ซึ่งจะเป็นการพัฒนาคุณค่าที่แตกต่างของน้ำผึ้งไทย ความเป็นเอกลักษณ์เฉพาะ ทั้งทางด้านรสชาติ กลิ่นและคุณค่าทางยาเพื่อให้เหมาะกับการบริโภคในฐานะอาหารเสริมสุขภาพ ผลการศึกษาในงานวิจัยนี้พบว่าน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรจากดอกดาวกระจายมีปริมาณฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ กรดแอสคอร์บิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH FRAP AEAC) สูงกว่าน้ำผึ้งจากดอกเสี้ยว และดอกพิกุล ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติดังกล่าวของน้ำผึ้งดอกดาวกระจายกับน้ำผึ้งมานูก้า (นิวซีแลนด์) พบว่า น้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีปริมาณฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ กรดแอสคอร์บิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH FRAP AEAC) สูงกว่าน้ำผึ้งมานูก้า (นิวซีแลนด์) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน้ำผึ้งดอกดาวกระจายของไทยมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระไม่แพ้น้ำผึ้งดอกมานูก้าที่มีชื่อเสียงจากต่างประเทศ

คำสำคัญ : น้ำผึ้ง, ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ, สมุนไพรพืชหอม, คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ, สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

[1]มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราชบุรี 209 หมู่ 1 ตำบลรางบัว อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี 70150

The Physicochemical Characteristics and Biologically Active Compounds of Unique Unifloral Honey from Aromatic Plants

[1]Kanteera Soontharapirakkul, [1] Orawan Duangpakdee, [1] Preecha Rod-im

Abstract

Thailand is suitable for beekeeping and honey production in every aspect due to the diversity of the native bee species (*Apis cerana, Apis dorsata, Apis florea, Apis andreniformis*). Especially *A. florea*, a highly effective pollinator, are well adapted to the local environmental conditions. There are few diseases and natural enemies. In addition, a variety of plants in tropical forests and aromatic plants, resulting in a high variety of biological substances. Aromatic plants are the food of bees by providing nectar and pollen and have medicinal properties in nourishing the heart, nourishing the blood, resolving diarrhea, headache, sore throat. The research on various honeys have previously been reported but there are no research report of Bidens honey, Bauhinia honey and Mimusops honey. Therefore, the objective of this research is to study the physicochemical characteristics and biologically active compounds of unique unifloral honey from 3 aromatic plants (*Bidens bipinnata* L., *Bauhinia saccocalyx* Pierre, *Mimusops elengi* L.) which will develop the different values of Thai honey in terms of uniqueness in taste, aroma, and medicinal value. There will be suitable for consumption as a health food supplement. The results indicated that Bidens honey showed the highest total phenolics, total flavonoid, ascorbic acid, 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH), ferric reducing antioxidant potential (FRAP) and ascorbic acid equivalent antioxidant content (AEAC) followed by Bauhinia honey and Mimusops honey, respectively. When comparing the properties of Bidens honey with those of Manuka honey (New Zealand), the results show that total phenolics, total flavonoid, ascorbic acid, DPPH, FRAP and AEAC of Bidens honey is higher than Manuka honey. Therefore, Bidens honey is of excellent quality and a prospective source of antioxidants, which is no different from the famous Manuka honey from foreign countries.

Keywords : Honey, Antioxidant, Aromatic Plants, Physicochemical characteristics, Biologically active compounds

[1] King Mongkut's University of Technology Thonburi Ratchaburi Campus, 209 Moo 1, Rang Bua, Chom Bueng District, Ratchaburi 70150

กิตติกรรมประกาศ

(Acknowledgement)

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ปีงบประมาณ 2559 ที่ได้สนับสนุนงบประมาณสำหรับการดำเนินงานวิจัยในเรื่อง ‘คุณสมบัติทางเคมีกายภาพและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะดอกไม้ชนิดเดียว (unique uniflora honey) จากสมุนไพรพืชหอม’ ซึ่งเป็นทุนวิจัยหมวดเงินอุดหนุนที่ได้รับการจัดสรรจากรัฐ และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราชบุรีและบางมด ที่ได้อำนวยความสะดวกในการใช้พื้นที่และเครื่องมือต่างๆ สำหรับการศึกษาวิจัย รวมทั้งเกษตรกรที่ให้ความอนุเคราะห์แก่คณะผู้วิจัยในการเก็บตัวอย่างน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรพืชหอมในชุมชนตัวแทนเขตพื้นที่ อ. โพธาราม อ.บ้านโป่ง อ. จอมบึง และ อ. สวนผึ้ง จ. ราชบุรี จึงขอขอบพระคุณทุกท่าน ทุกหน่วยงานที่ทำให้การดำเนินโครงการวิจัยสามารถบรรลุผลและดำเนินไปได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

คณะผู้วิจัย

ลงวันที่ 10 มีนาคม 2563

สารบัญ (Table of Contents)

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	จ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	7
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	15
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	32
เอกสารอ้างอิง	35

สารบัญตาราง (List of Tables)

ตารางที่	หน้า
4.1 สารองค์ประกอบในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร (น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล) ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS	20
4.2 สารองค์ประกอบเฉพาะที่พบในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร (น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล) แต่ละชนิดจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS	22
4.3 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรจำนวน 4 ชนิ	23
4.4 สีของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรจำนวน 4 ชนิด	26
4.5 ค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพกับคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร (น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกมานูก้า)	31

สารบัญภาพ (List of Illustrations)

ภาพที่	หน้า
2.1 ผึ้งมิ้ม (*Apis florea*)	3
3.1 ดอกดาวกระจาย (*Bidens bipinnata* L.)	7
3.2 ดอกเสี้ยว (*Bauhinia saccocalyx* Pierre)	8
3.3 ดอกพิกุล (*Mimusops elengi* L.)	9
3.4 ดอกมานูก้า (*Leptospermum scoparium*)	10
3.5 ระดับความเข้มสีของน้ำผึ้ง (Pfund scale of honey) 7 ระดับ โดย USDA	12
4.1 โครมาโตแกรมของสารองค์ประกอบในน้ำผึ้งดอกดาวกระจายที่ได้จากเครื่อง GC-MS	16
4.2 โครมาโตแกรมของสารองค์ประกอบในน้ำผึ้งดอกเสี้ยวที่ได้จากเครื่อง GC-MS	17
4.3 โครมาโตแกรมของสารองค์ประกอบในน้ำผึ้งดอกพิกุลที่ได้จากเครื่อง GC-MS	18
4.4 แผนภาพคะแนน (score plot) ระหว่างส่วนประกอบหลักที่ 1 (PC1) และ ส่วนประกอบหลักที่ 2 (PC2) ของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร (น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล)	23
4.5 ระดับความเข้มสีของน้ำผึ้ง (Pfund scale of honey) 7 ระดับ โดย USDA	26
4.6 ปริมาณฟีโนลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร	27
4.7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) assay ของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร	28
4.8 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) assay ของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร	29
4.9 ปริมาณแอนตี้ออกซิแดนท์โดยวิธี Assessment of Ascorbic acid Equivalent Antioxidant Capacity (AEAC) และปริมาณกรดแอสคอร์บิกในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร	30

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย (List of Abbreviations)

DPPH	2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity
FRAP	Ferric reducing antioxidant potential
AEAC	Ascorbic acid equivalent antioxidant content
PCA	Principal component analysis

บทที่ 1 บทนำ
(Introduction)

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

น้ำผึ้ง (Honey) เป็นผลิตผลทางการเกษตรที่ได้จากน้ำหวานจากเกสรดอกไม้และจากแหล่งน้ำหวานอื่นๆที่ผึ้งไปเก็บมาและผ่านขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีตามธรรมชาติแล้วสะสมไว้ในรังผึ้ง น้ำผึ้งมีสีเหลืองใสจนถึงน้ำตาลเข้ม ข้นหนืดและมีรสหวาน เนื่องจากน้ำผึ้งมีสรรพคุณทางโภชนาการและทางการแพทย์เป็นที่ยอมรับ จึงเป็นที่นิยมใช้ในการบริโภคโดยตรง และยังใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์จากอุตสาหกรรมยา อาหารและเครื่องสำอาง

ทั้งนี้หากผึ้งเก็บน้ำหวานจากพืชอาหารที่มีสมบัติเป็นพืชสมุนไพรจะทำให้น้ำผึ้งที่ได้มีคุณสมบัติเป็นสมุนไพรไปด้วย เช่น น้ำผึ้งมานูก้า (Manuka honey) จากดอกมานูก้า (*Leptospermum scoparium*) ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรของประเทศนิวซีแลนด์ที่มีฤทธิ์ต่อต้านจุลินทรีย์ที่คุณภาพสูงมากเป็นพิเศษเมื่อเทียบกับน้ำผึ้งชนิดอื่น เนื่องจากมีองค์ประกอบของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และฟีนอลิก (phenolic compounds) ที่เรียกว่า methyglyoxal น้ำผึ้งจากต้นยูคาลิปตัส (eucalyptus honey) มีคุณสมบัติในด้านการต่อต้านการอักเสบ บรรเทาอาการไอ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค น้ำผึ้งเกสรดอกลำไยจากไทยเป็นที่นิยมมากในกลุ่มชาวจีนเพราะเชื่อว่ามีคุณสมบัติในลักษณะของการเป็นยาบำรุงกาลัง โดยน้ำผึ้งจากดอกไม้ต่างชนิดกันยังมีองค์ประกอบและคุณค่าทางยาที่เฉพาะแตกต่างกันไปด้วย ตามคุณลักษณะของพืชชนิดนั้น คุณสมบัติพิเศษที่เพิ่มขึ้นมาทำให้น้ำผึ้งเหล่านี้มีมูลค่าในท้องตลาดสูงกว่าน้ำผึ้งปกติ เช่น สูงกว่าถึง 2 เท่าในน้ำผึ้งจากยูคาลิปตัส และสูงถึง 10 เท่าในน้ำผึ้งมานูกา นอกจากนี้ น้ำผึ้งที่ผลิตจากเกสรดอกไม้ชนิดเดียว (mono/unifloral honey) ยังเป็นที่นิยมและจำหน่ายได้ราคาสูงกว่าน้ำผึ้งที่ผลิตจากเกสรดอกไม้หลายชนิด (multi/polyfloral honey) เพราะเป็นน้ำผึ้งที่มีคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสที่เฉพาะตัวด้านรส กลิ่น สี ซึ่งมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคและราคาจาหน่ายด้วย

ประเทศไทยมีความเหมาะสมทุกด้านในการเลี้ยงผึ้งเพื่อผลิตน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะ เนื่องจากมีความหลากหลายของชนิดผึ้งพื้นเมืองที่สามารถผลิตน้ำผึ้ง ความหลากหลายของพรรณไม้ในป่าเขตร้อนส่งผลให้ความหลากหลายของสารชีวภาพมีสูง คุณสมบัติของน้ำผึ้งไทยจึงมีความโดดเด่นด้านกลิ่นและรสชาติตามพื้นที่และมีคุณสมบัติในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สูงด้วยกว่าร้อยละ 50 ของพืชสมุนไพรไทยเป็นอาหารของผึ้งโดยเป็นแหล่งให้น้ำหวานและเกสร พืชในกลุ่มนี้ยังรวมไปถึงสมุนไพรพืชหอมที่เป็นพืชอาหารผึ้งอีกกว่าร้อยชนิด มีสรรพคุณทางยาในด้านการบำรุงหัวใจ บำรุงโลหิต แก้ท้องเสีย ปวดหัว เจ็บคอ ขับเสมหะ และมีกลิ่นหอมที่มีเอกลักษณ์เฉพาะชนิด ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะจากดอกไม้สมุนไพรพืชหอมของไทย ซึ่งจะเป็นการพัฒนาคุณค่าที่แตกต่างของน้ำผึ้งไทย ความเป็นเอกลักษณ์เฉพาะ ทั้งทางด้านรสชาติ กลิ่นและคุณค่าทางยาเพื่อให้เหมาะกับการบริโภคในฐานะอาหารเสริมสุขภาพและสร้างมูลค่าเพิ่มของน้ำผึ้งในท้องตลาดทั้งในและต่างประเทศ พร้อมทั้งสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ผู้บริโภคโดยทำวิจัยรองรับเพื่อกำหนดคุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งที่ได้ทั้งทางด้านคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพให้มีมาตรฐานในระดับสากลเพื่อผลักดันผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะจากพืชหอมของไทยและยกระดับสู่มาตรฐานตลาดสากลและแข่งขันได้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะจากสมุนไพรพืชหอม

1.2.2 เพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะจากสมุนไพรพืชหอม

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัยและวิธีการดำเนินการวิจัยโดยสรุป

โครงการวิจัยนี้ทำการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะดอกไม้ชนิดเดียว (unique uniflora honey) จากสมุนไพรพืชหอม 3 ชนิด คือ ดาวกระจาย เสี้ยว พิกุล โดยพืชทั้งหมดนี้มีดอกและเกสรที่มีกลิ่นหอมโดดเด่น ทั้งมีคุณสมบัติเป็นยาหอม บำรุงหัวใจ เป็นยาขับเสมหะ บำรุงโลหิต แก้ร้อนในกระสับกระส่าย แก้ลมกองละเอียด ซึ่งทำให้หน้ามืดวิงเวียนใจสั่น อ่อนเพลีย หัวใจหวิว ชูกำลัง

1.3.1 สถานที่เก็บตัวอย่างน้ำผึ้ง คือ ระบบนิเวศธรรมชาติและ/หรือระบบนิเวศเกษตรกรรมที่มีดอกไม้สมุนไพรพืชหอมในชุมชนตัวแทนเขตพื้นที่ อ. โพธาราม อ.บ้านโป่ง อ. จอมบึง และ อ. สวนผึ้ง จ. ราชบุรี

1.3.2 ตลอดการเลี้ยงจะไม่มีการใช้สารเคมีหรือให้น้ำตาลและเกสรเสริม เพื่อยึดหลักความยั่งยืน อีกทั้งให้เกษตรกรมีส่วนร่วมในการเลี้ยงและเก็บผลผลิต (Participatory Technology Development) เพื่อปูพื้นไปสู่การนำไปปฏิบัติจริงในอนาคต

1.3.3 ตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้ง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้ทราบถึงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากน้าผึ้งสมุนไพรพืชหอม

1.4.2 ได้งานวิจัยสู่การพัฒนายาและผลิตภัณฑ์ชีวภาพอื่นๆ

1.4.3 ได้น้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะจากดอกไม้สมุนไพรพืชหอมที่เป็นอาหารเสริมสุขภาพ

1.4.4 เพิ่มมูลค่าให้แก่น้ำผึ้งที่ผลิตและส่งเสริมการพัฒนาน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะจากดอกไม้สมุนไพรพืชหอมสู่ตลาดในประเทศและนอกประเทศ

1.5 ทฤษฎี สมมุติฐานและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

แนวคิดของโครงการคือ การทำการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะดอกไม้ชนิดเดียว (unique uniflora honey) จากสมุนไพรพืชหอม 3 ชนิด คือ ดาวกระจาย เสี้ยว พิกุล โดยเป็นน้ำผึ้งที่ได้จากผึ้งมิ้ม ซึ่งเป็นผึ้งป่าในธรรมชาติของประเทศไทย ผลการวิจัยจะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อพัฒนาส่งเสริมการผลิตน้ำผึ้งจากดอกไม้สมุนไพรพืชหอม เพื่อพัฒนาคุณค่าที่แตกต่างของน้ำผึ้งไทย ความเป็นเอกลักษณ์เฉพาะ สร้างมูลค่าเพิ่มและความเชื่อมั่นให้แก่ผู้บริโภคน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะ

บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง (Literature Review)

2.1 ชีววิทยาของผึ้งมิ้มและการเลี้ยงเพื่อผลิตน้ำผึ้ง

ผึ้งมิ้ม (*Apis florea*) เป็นผึ้งขนาดเล็ก สร้างรวงรังแบบชั้นเดียว ขนาดความกว้างประมาณ 20 -- 30 ซม. ยาวประมาณ 50 ซม. (Crane, 1990) บนกิ่งก้านของต้นไม้ขนาดเล็ก ไม้พุ่ม ผึ้งมิ้มเป็นผึ้งที่พบได้ง่ายและมีจำนวนมากในประเทศไทย แม้แต่ในเขตชุมชนที่มีต้นไม้น้อย ก็ยังพบผึ้งมิ้มทำรังตามอาคารบ้านเรือนหรือสิ่งก่อสร้างที่มนุษย์สร้างขึ้น (Rinderer et al., 1996) จากการที่ผึ้งมิ้มเป็นแมลงผสมเกสรประสิทธิภาพสูงและแพร่กระจายอยู่ในสภาวะแวดล้อมหลากหลาย ผึ้งมิ้มจึงมีบทบาทสำคัญต่อความหลากหลายของระบบนิเวศมาก เนื่องจากมีการปรับตัวได้ดีมาก และสามารถพบได้ในแทบทุกสภาพพื้นที่ของประเทศไทย (อรวรรณ ดวงภักดีและคณะ, 2546) เหมาะกับการเลี้ยงในประเทศไทยที่สภาพธรรมชาติมีดอกไม้ไม่มากนัก (Nakamura et al., 1991) และสามารถเลี้ยงแบบไม่มีการเคลื่อนย้ายตามแหล่งอาหารได้ สามารถจำกัดการเก็บอาหารให้อยู่ในวงแคบได้ จึงเหมาะสาหรับการเลี้ยงเพื่อผลิตน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะจากดอกไม้ชนิดเดียว (Unifloral honey) ผึ้งมิ้มสามารถปรับตัวได้ดี มีโรคและศัตรูธรรมชาติน้อย ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะอากาศและการรบกวนได้ดี (Tirgari et al., 1969) จึงลดปัญหาการใช้ยาฆ่าแมลงและสารปฏิชีวนะในกระบวนการเลี้ยงผึ้ง น้ำผึ้งที่ได้จึงไม่มีสารตกค้าง

ภาพที่ 2.1 ผึ้งมิ้ม (*Apis florea*)

ตลาดน้ำผึ้งในประเทศไทยมาจาก ก. ผึ้งเลี้ยง คือ ผึ้งพันธุ์และผึ้งโพรง และ ข. ผึ้งป่า คือ ผึ้งมิ้มและผึ้งหลวง น้ำผึ้งป่าคือน้าผึ้งที่เก็บได้จากธรรมชาติ ปัจจุบันผึ้งหลวงมีการเลี้ยงได้บ้างในประเทศเวียดนาม แต่เนื่องจากเป็นผึ้งขนาดใหญ่ค่อนข้างดุร้าย ในเมืองไทยจึงยังไม่มีเกษตรกรนำมาประยุกเลี้ยงในเชิงเศรษฐกิจ สำหรับการเก็บน้ำผึ้งจากผึ้งมิ้ม เกษตรกรจะไปตีรังผึ้งที่มีในธรรมชาติและนำทั้งรังมาขายเป็นน้ำผึ้งป่า น้ำผึ้ง

จากผึ้งมิ้มเป็นที่นิยมบริโภค แต่ยังไม่มีการตีเป็นมูลค่าชัดเจนเนื่องจากมีการขายให้เฉพาะกับนักท่องเที่ยวที่เดินทางไปยังพื้นที่ธรรมชาติ ในตลาดจตุจักร กรุงเทพมหานคร และตลาดสดอื่นๆ ในจังหวัดทางภาคเหนือ ภาคอีสานและภาคตะวันตกของประเทศไทย มีการขายน้ำผึ้งและตัวอ่อนจากผึ้งมิ้มอย่างกว้างขวาง ในราคารังละ 80-200 บาท ขึ้นอยู่กับขนาดและปริมาณน้ำผึ้งที่สะสมในพื้นที่หัวน้ำหวาน (Oldroyd and Wongsiri, 2006) และในแต่ละปีอาจมีการซื้อขายรังผึ้งมิ้มสูงถึง 1,000,000 รัง (Personal Observation, Orawan Duangphakdee)

2.2 น้ำผึ้งและคุณสมบัติ

น้ำผึ้งเป็นผลิตผลทางการเกษตรที่ได้จากน้ำหวานของเกสรดอกไม้และจากแหล่งน้ำหวานอื่นๆ ที่ผึ้งไปเก็บมาและผ่านขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีตามธรรมชาติแล้วสะสมไว้ในรังผึ้ง น้ำผึ้งมีสีเหลืองใสจนถึงน้ำตาลเข้ม ข้นหนืดและมีรสหวาน (Alimentarius, 2001) คุณลักษณะของน้ำผึ้งขึ้นอยู่กับประเภทของพืชอาหารในแต่ละท้องถิ่น เนื่องจากน้ำผึ้งมีสรรพคุณทางโภชนาการและทางการแพทย์เป็นที่ยอมรับ จึงเป็นที่นิยมทั้งในการใช้บริโภคโดยตรง เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์จากอุตสาหกรรมยา อาหารและเครื่องสำอาง

น้ำผึ้งประกอบด้วยสารหลายชนิด ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต 82.0% (ซูโครส, ฟรัคโตส, มอลโตส), โปรตีน 0.3%, น้ำ 17.0%, แร่ธาตุ 0.7% และวิตามินและสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (National Honey Board: Honey and Bees, 2003) โปรตีนต่างๆ ในน้ำผึ้งประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายและเอนไซม์ เช่น amylase, glucose oxidase และ glutathione S-transferase เป็นต้น (Gunter et al., 2001) น้ำผึ้งที่มาจากดอกไม้ต่างชนิดกัน จะมีความแตกต่างในเรื่องรส กลิ่น สีของน้ำผึ้งและ องค์ประกอบของน้ำตาลแตกต่างกันไปด้วย เช่น มีสัดส่วนของน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสไม่เท่ากัน ส่งผลต่อคุณสมบัติในการตกผลึกของน้ำผึ้งแต่ละชนิดด้วย

น้ำผึ้งยังมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อต้านเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด เช่น *Bacillus anthracis, Escherichia coli, Psudomonase aeruginosa* และ *Salmonella* sp. เป็นต้น (Molan, 1992 และ 1997) น้ำผึ้งมีปริมาณน้ำน้อย เมื่อแบคทีเรียสัมผัสกับน้ำผึ้ง จะทำให้น้ำผึ้งสามารถดึงน้ำออกจากแบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ รวมทั้งยังมีเอนไซม์ glucose oxidase ที่สามารถเปลี่ยนกลูโคสให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นสารยับยั้งแบคทีเรียอีกด้วย (White et al., 1963) ในทางการแพทย์สามารถนำน้ำผึ้งไปใช้ในการรักษาโรคต่างๆ เช่น ลดการอักเสบของแผล รักษาแผลไฟไหม้ แผลเป็น (Christy et al., 2011) นอกจากนี้น้ำผึ้งยังมีสารต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากในน้ำผึ้งมีสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ กรดฟีโนลิก กรดแอสคอร์บิก เอนไซม์คะตะเลส เอนไซม์เปอออกซิเดสและผลผลิตจาก Maillard reactions (Gheldof and Engeseth, 2002) Al-Mamarya et al. (2002) ได้เปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณของสารประกอบฟินอลิกของตัวอย่างน้ำผึ้งที่เก็บได้ในประเทศ Yemeni 5 ตัวอย่าง ได้แก่ *Acacia ehrenbergina* (Salam-Tehamah), *Acacia edgeworhi* (Somar-Hadramout), *ZiziphusSpina-christi* L. (Sidr-Hadramout), *ZiziphusSpina-christi* L. (Sidr-Taiz) และ Tropical blossom (Marbai-Hadramout) กับน้ำผึ้งนำเข้าจำนวน 4 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำผึ้งจาก American (Tropical blossom -New Orleans and Orange source -Florida) น้ำผึ้งจาก Swiss (blossom) และน้ำผึ้งจาก Iranian (Tropical blossom) ด้วยวิธีของ Folin-Ciocalteu จากการหาปริมาณสารประกอบฟินอลิก พบว่าน้ำผึ้งตัวอย่างมีปริมาณรวมของสารประกอบฟินอลิกในช่วง 56.32 –246.21 mg CE/100 g (mg catechin equivalent/100 g honey) นอกจากนี้ยังพบว่าประมาณสี่ถึงห้าตัวอย่างของ Yemeni honey (75.13 – 246.21 mg CE/100 g) มีองค์ประกอบของสารประกอบฟินอลิกสูงกว่าน้ำผึ้งนำเข้า (56.32 – 68.59 mg

CE/100 g) จากการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างน้ำผึ้งจาก 50 µl , 100 µl และ 200 µl ทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระรวมเพิ่มขึ้น โดยมีค่าตั้งแต่ 6.48% ถึง 65.44% และน้ำผึ้ง *Acacia ehrenbergina* (Salam-Tehamah) มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและมีปริมาณสารประกอบฟินอลิกสูงสุด

มนตรา ศรีษะแย้ม (2553) ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity โดยนำน้ำผึ้งไทย 29 ตัวอย่างที่ซื้อจาก จ. เชียงใหม่ แบ่งตามพืชอาหารของผึ้งได้ 9 ชนิด คือ ลำไย (*Dimocarpus longan*), สาบเสือ (*Eupotorium odortum*), ลิ้นจี่ (*Litchi chinensis*), ทานตะวัน (*Helianthus annuus*), นุ่น (*Ceiba pentandra*), ยางพารา(*Hevea brasiliensis*), งา (*Sesamum indicum*), เงาะ (*Nephelium lappaceum*) และดอกไม้ป่า (multifloral) พบว่าน้ำผึ้งเงาะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดและมีค่า IC50 ในช่วง 4.70 – 6.86 mg/ml ส่วนน้ำผึ้งลิ้นจี่และน้ำผึ้งยางพารามีฤทธิ์ค่อนข้างต่ำ โดยน้ำผึ้งลิ้นจี่ให้ค่าโดยเฉลี่ยต่ำสุดในช่วง 15.21 – 26.67 mg/ml นอกจากนี้ยังได้ทดสอบหาปริมาณของสารประกอบฟินอลิก โดยวิธี Folin-Ciocalteu พบว่า ตัวอย่างน้ำผึ้งเงาะและน้ำผึ้งนุ่นให้ปริมาณสารประกอบฟินอลิกที่สูงมากอยู่ในช่วง 913.85 – 1,406.93 และ 788.74 – 1,171 mg GA/kg (mg gallic acid equivalent/1 kg honey) ตามลำดับ

2.3 น้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะจากพืชชนิดเดียว (Unique Unifloral Honey)

ประเทศไทยมีความเหมาะสมทุกด้านในการเลี้ยงผึ้งเพื่อผลิตน้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะ เนื่องจากมีความหลากหลายของชนิดผึ้งพื้นเมือง ซึ่งมีถึง 4 ชนิด คือ ผึ้งโพรง (*Apis cerana*) ผึ้งหลวง (*Apis dorsata*) ผึ้งมิ้ม (*Apis florea*) และผึ้งมิ้มเล็ก (*Apis andreniformis*) มีความหลากหลายของพรรณไม้ในป่าเขตร้อนส่งผลให้ความหลากหลายของสารชีวภาพมีสูง โดยมีรายงานพืชสมุนไพรไทยทั้งหมดประมาณ 1,200 ชนิด ที่ใช้ทำเป็นยา รักษาโรค โดยใช้ส่วนต่างๆของพืชชนิดเดียว หรือหลายๆ ชนิดพร้อมกัน (โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน, 2551) ดอกจากสมุนไพรพืชหอมหลายชนิดในประเทศไทย ก็ใช้รับประทานทั้งในรูปแบบอาหารและยา เนื่องจากให้คุณค่าทางสารอาหารสูง บำรุงร่างกายและยารักษาโรค ดอกของพืชหอมหลายชนิดมีสารต้านแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร (Boonyaprapatsara, 2000; Vachirasup, 1995) และมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้านการต้านอนุมูลอิสระสูงด้วย เช่น สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สารสำคัญที่พบในสารภีและพิกุล (ก่องกานดา ชยามฤตและลีนา ผู้พัฒนพงศ์, 2544) แพว (Lopez et al., 2006) และเสี้ยวแดง (พมมะวง ชาลีกาบแก้ว, 2551) สารเควอซิทิน (quercetin) สารสำคัญที่พบในบัวหลวง (Ling et al., 2005) และสารกลุ่มแทนนิน (tannin) ที่พบในบุนนาคและสมอไทย (ก่องกานดา ชยามฤตและลีนา ผู้พัฒนพงศ์, 2544) นอกจากนี้ยังพบว่าเกสรจากดอกบัวหลวง บุนนาค สารภี และสมอไทย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงพิเศษและมีสารต้านแซนทีนออกซิเดสสาเหตุของโรคเก๊าได้ด้วย (อ้อมใจ แต้เจริญวิริยะกุลและคณะ, 2554) ในจำนวนนี้กว่าร้อยละ 50 ของพืชสมุนไพรไทยเป็นอาหารของผึ้งโดยเป็นแหล่งให้น้ำหวานและเกสร และมีสมุนไพรพืชหอมที่เป็นพืชอาหารผึ้งอีกกว่าร้อยชนิด มีสรรพคุณทางยาในด้านการบำรุงหัวใจ บำรุงโลหิต แก้ท้องเสีย ปวดหัว เจ็บคอ ขับเสมหะ และมีกลิ่นหอมที่มีเอกลักษณ์เฉพาะชนิด (ก่องกานดา ชยามฤตและลีนา ผู้พัฒนพงศ์, 2544) น้ำผึ้งที่ได้จากดอกไม้เหล่านี้จึงมีความโดดเด่นด้านกลิ่นและรสชาติตามพื้นที่และมีคุณสมบัติในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สูงด้วย

องค์ประกอบของน้ำผึ้งจะขึ้นกับดอกไม้ (แหล่งอาหาร) สภาพอากาศ สภาวะแวดล้อมของการเลี้ยง ฯลฯ (Anklam, 1988; Azeredo et al., 2003) ซึ่งปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ส่งผลให้สี รสชาติ คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและคุณสมบัติยับยั้งแบคทีเรียของน้ำผึ้งแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน พืชสมุนไพรหลายชนิด

สามารถผลิตเมแทบอไลท์ทุติยภูมิที่มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งแบคทีเรีย และเมแทบอไลท์ทุติยภูมิมีคุณสมบัติเฉพาะที่มีวิวัฒนาการคู่มากับแมลงผสมเกสร เช่น กาแฟหรือพืชตระกูลส้ม ซึ่งมีปริมาณคาเฟอีน 0.003--0.253 มิลลิโมลาร์ (Wright et al. 2013) ในน้ำหวานจากดอก และเมื่อผึ้งเก็บน้ำหวานจากดอกไม้เหล่านี้ น้ำผึ้งที่ได้จะมีองค์ประกอบของคาเฟอีน ซึ่งพบว่าช่วยในการกระตุ้นระบบสมองของผึ้งให้มีความจำที่ดีขึ้นเพื่อให้ผึ้งดังกล่าวสามารถจดจำตำแหน่งแหล่งอาหารและบินกลับไปเก็บน้ำหวานที่ต้นเดิมได้ (Wright et al. 2013) น้ำผึ้งที่ได้จากดอกไม้พืชสมุนไพรมักจะมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพรด้วย และหากเป็นน้ำผึ้งที่ผลิตจากเกสรดอกไม้ชนิดเดียว (mono/unifloral honey) จะมีคุณสมบัติทางยา รสชาติและคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสที่เฉพาะตัวเฉพาะชนิดของดอกไม้นั้น ด้วย เรียกว่า น้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะ เช่น น้ำผึ้งมานูก้า (Manuka honey) จากดอกมานูก้า (*Leptospermum scoparium*) ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรของประเทศนิวซีแลนด์ทมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์สูงมากเป็นพิเศษเมื่อเทียบกับน้ำผึ้งชนิดอื่น (Alnaimat et al., 2013) งานวิจัยหลายชิ้นได้วิเคราะห์และตรวจสอบว่าประสิทธิ์ภาพของต้านจุลินทรีย์ดังกล่าวไม่ได้ขึ้นกับความเป็นกรด การมีน้ำน้อย หรือการสะสมของโฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Weston, 2000) แต่ได้มาจากสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และ ฟีนอลิก (Phenolic compounds) โดยเฉพาะสาร methyglyoxal (Windsor et al., 2012) น้ำผึ้งจากต้นยูคาลิปตัส (eucalyptus honey) มีคุณสมบัติในด้านการต่อต้านการอักเสบ ลดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบและลำใส้ บรรเทาอาการไอ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และมีฤทธิ์ดับกลิ่นเหงื่อได้ด้วย (Martos et. Al., 2000) น้ำผึ้งเกสรดอกลำไยจากไทยเป็นที่นิยมมากในกลุ่มชาวจีนเพราะเชื่อว่ามีคุณสมบัติในลักษณะของการเป็นยาบำรุงกำลัง ทั้งนี้น้ำผึ้งจากดอกไม้ต่างชนิดกันยังมีองค์ประกอบของคุณค่าทางยาที่เฉพาะแตกต่างกันไปด้วย ตามคุณลักษณะของพืชชนิดนั้น คุณสมบัติพิเศษเหล่านี้มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคและราคาจำหน่ายน้ำผึ้ง (Bogdanov and Martin, 2002) น้ำผึ้งเอกลักษณ์เฉพาะจึงเป็นที่นิยมและจำหน่ายได้ราคาสูงกว่าน้ำผึ้งที่ผลิตจากเกสรดอกไม้หลายชนิด (multi/polyfloral honey) เช่น สูงถึง 2 เท่าในน้ำผึ้งจากยูคาลิปตัส และสูงถึง 10 เท่าในน้ำผึ้งมานูก้า

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย
(Materials and Method)

3.1 น้ำผึ้งที่ใช้ในการวิจัย

น้ำผึ้งที่ใช้ในการวิจัยได้มาจากผึ้งมิ้ม (*Apis florea*) ซึ่งผลิตน้ำผึ้งจากเกสรและน้ำหวานของดอกไม้สมุนไพรพืชหอม 3 ชนิด คือ ดอกดาวกระจาย ดอกเสี้ยว ดอกพิกุล (ในพื้นที่จังหวัดราชบุรี) โดยมีน้ำผึ้งดอกมานูก้า (นิวซีแลนด์) เป็นตัวเปรียบเทียบ

3.2 ชนิดของดอกไม้สมุนไพรพืชหอมที่จะใช้ผลิตน้ำผึ้ง

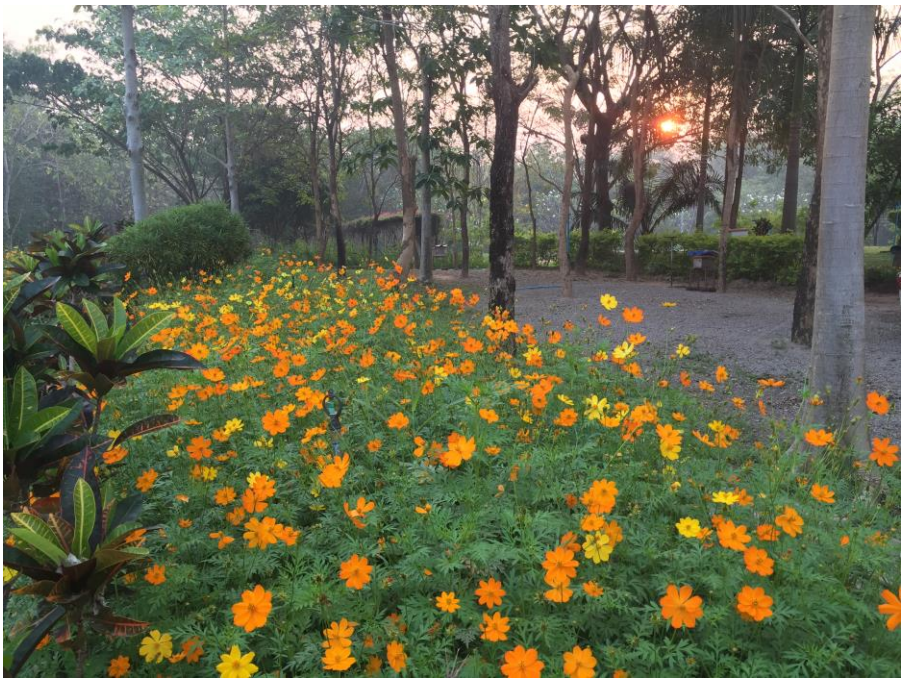
ก. ดอกดาวกระจาย *Bidens bipinnata* L.

ลักษณะทั่วไป

เป็นไม้ล้มลุก ลำต้นตั้งตรง ความสูงของลำต้นประมาณ 25-85 เซนติเมตร ดอกดาวกระจายเป็นดอกสีเหลืองสด มี 5 แฉก เมื่อเวลาที่ดอกบานจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6-10 มิลลิเมตร ก้านดอกยาวประมาณ 1.8-8.5 เซนติเมตร ออกดอกตลอดทั้งปี เมื่อดอกดาวกระจายบาน จะบานได้นานหลายวันประมาณ 2-3 สัปดาห์ จากนั้นก็จะร่วงและติดเมล็ด แล้วจะมีการทยอยออกดอกชุดใหม่เรื่อยๆ

สมบัติทางยาของลำต้นและใบ: ส่วนลำต้นใช้เป็นยาดับร้อนถอนพิษไข้ ฟอกโลหิต แก้ระบบทางเดินหายใจติดเชื้อ ส่วนใบใช้เป็นยาแก้ท้องร่วงท้องเสีย รักษาบาดแผล

ชนิดอาหารที่ให้ผึ้ง: ให้น้ำหวาน เป็นอาหารผึ้งระดับดีมากทั้งคุณภาพและปริมาณ



ภาพที่ 3.1 ดอกดาวกระจาย (*Bidens bipinnata* L.)

ข. ดอกเสี้ยว *Bauhinia saccocalyx* Pierre

ลักษณะทั่วไป

เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก แตกกิ่งก้านเป็นพุ่มเตี้ย ความสูงของลำต้นประมาณ 10 เมตร ดอกมีสีขาว มีกลีบดอก 5 กลีบ ดอกมีกลิ่นหอมอ่อนๆ ออกดอกช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนพฤษภาคม

สมบัติทางยาของใบ: ส่วนใบนำไปใช้ต้มน้ำดื่มเพื่อฟอกเลือดทำเลือดไหลเวียนดีขึ้น แก้ท้องผูก ขับปัสสาวะ

ชนิดอาหารที่ให้ผึ้ง: ให้น้ำหวาน เป็นอาหารผึ้งระดับดีมากทั้งคุณภาพและปริมาณ

ภาพที่ 3.2 ดอกเสี้ยว (*Bauhinia saccocalyx* Pierre)

ค. ดอกพิกุล *Mimusops elengi* L.

ลักษณะทั่วไป

เป็นไม้ต้นขนาดกลาง เรือนยอดแน่นทึบ เปลือกต้นสีน้ำตาลเทา มีรอยแตกระแหงตามแนวยาว ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงกันแบบสลับ ลักษณะใบมนเป็นรูปไข่ หรือรูปไข่แกมหอก มีขนาดกว้าง 2-5 เซนติเมตร ยาว 5-10 เซนติเมตร ดอกเกิดเป็นกระจุกตามง่ามใบและตามยอด มีสีขาวปนเหลือง กลีบรองดอกมี 8 กลีบ เรียงเป็น 2 วงๆละ 8 แฉก ดอกบานมีกลิ่นหอม ผลรูปไข่กลมถึงรี ภายในมีเมล็ดเดียว ออกดอกตลอดปี

สมบัติทางยาของดอกและเกสร: ดอกสด ทำยาหอม ยานัตถุ์ ใช้แต่งกลิ่นเครื่องสาอาง แก้ท้องเสีย ดอกแห้งเป็นยาบำรุงหัวใจ ปวดหัว เจ็บคอ ขับเสมหะ

ชนิดอาหารที่ให้ผึ้ง: ให้เกสรและน้ำหวาน เป็นอาหารผึ้งระดับดีมากทั้งคุณภาพและปริมาณ

ภาพที่ 3.3 ดอกพิกุล (*Mimusops elengi* L.)

ง. ดอกมานูก้า *Leptospermum scoparium*

ลักษณะทั่วไป

เป็นพืชพื้นถิ่นของประเทศนิวซีแลนด์ที่มีลักษณะเป็นพุ่ม ความสูงของลำต้นประมาณ 4 เมตร ดอกมานูก้าป่าส่วนใหญ่จะมีสีขาว มีกลีบ 5 แฉก แม้ต้นมานูก้าป่าจะไม่ค่อยเป็นที่นิยมปลูกเป็นพืชดอกในประเทศนิวซีแลนด์ แต่ด้วยความที่ดอกมานูก้ามีความหลากหลายทางด้านสีสันตั้งแต่ชมพูไปจนถึงสีม่วงแดงจึงทำให้ประเทศอังกฤษนิยมปลูกเพราะดอกมานูก้ามีสีสันสวยงาม

สมบัติทางยาของใบและเปลือก: ชาวเมารีใช้ใบเพื่อลดไข้และรักษาโรคทางเดินปัสสาวะ เมื่อนำใบมานูก้าแช่ในน้ำร้อนจะให้ไอสำหรับสูดดมเพื่อลดอาการหวัด คัดจมูก เปลือกต้นมานูก้ามีการนำมาบดเพื่อใช้เป็นยากล่อมประสาทและลดอาการท้องร่วง อีกทั้งยังมีการใช้เพื่อบรรเทาอาการปวดข้อและกล้ามเนื้อ

ชนิดอาหารที่ให้ผึ้ง: ให้เกสรและน้ำหวาน เป็นอาหารผึ้งระดับดีมากทั้งคุณภาพและปริมาณ

ภาพที่ 3.4 ดอกมานูก้า (*Leptospermum scoparium*)
(ที่มา https://abcnews.go.com/GMA/Wellness/manuka-honey-trendy-sweetener-pay/story?id=57008864)

3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบสารเฉพาะตัวในน้ำผึ้งสมุนไพรด้วยเทคนิค GC-MS

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำผึ้ง

ตัวอย่างน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรจำนวน 9 ตัวอย่าง ถูกเตรียมโดยวิธี solid phase microextraction (SPME) ตัวอย่างน้ำผึ้งปริมาณ 2 กรัม/ตัวอย่าง ถูกดูดซับบนไฟเบอร์ Stable FlexTM 65 µm PDMS/DVB (Supelco, USA) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นคายซับที่อุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

3.3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบสารเฉพาะตัวในน้ำผึ้งสมุนไพรด้วยเทคนิค GC-MS

นำตัวอย่างน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่เตรียมไว้มาวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง gas chromatography-mass spectrophotometer (GC-MS) (รุ่น GC 7890B/ MS 5977A บริษัท Agilent Technologies ประเทศสหรัฐอเมริกา) โดยใช้ column ชนิด HP-5ms Ultra Inert GC Column, 30 m, 0.25 mm, 0.25 µm สภาวะการทำงาน (condition) ของ GC-MS คือ ใช้ helium เป็น carrier gas มีอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ injector เท่ากับ 220 องศาเซลเซียส โปรแกรมอุณหภูมิคอลัมน์เริ่มต้น 40 องศาเซลเซียส คงไว้ 5 นาที และเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 150 องศาเซลเซียส ในอัตรา 3 องศาเซลเซียสต่อนาที และเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 220 องศาเซลเซียส ในอัตรา 20 องศาเซลเซียสต่อนาที คงไว้ 5 นาที ส่วนอุณหภูมิ detector เท่ากับ 250 องศาเซลเซียส แปลผลโดยเทียบกับ library ของ NIST และ Wiley 275 ที่ % quality match ไม่ต่ำกว่า 85%

3.3.3 การวิเคราะห์ส่วนประกอบหลักเพื่อทำการจัดกลุ่มน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร

ตัวแปรสารองค์ประกอบในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร 38 ตัวที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS ถูกนำมาวิเคราะห์หาส่วนประกอบหลักที่ 1 (PC1) และส่วนประกอบหลักที่ 2 (PC2) ด้วยวิธี Principal component analysis (PCA) เพื่อวิเคราะห์จัดกลุ่มน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร โดยทำการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Minitab19 (Minitab, LLC; USA)

3.4 การตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำผึ้ง

คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรถูกนำมาตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการดังนี้

3.4.1 การวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH)

เตรียมสารละลายน้ำผึ้ง 10% โดยมวลต่อปริมาตร ในน้ำกลั่น วัดค่าความเป็นกรด – ด่าง ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH meter)

3.4.2 ปริมาณความชื้น (Moisture content)

วัดปริมาณความชื้นในน้ำผึ้งด้วยหลักการ Refractometric method ด้วยเครื่อง Digital refractometer Atago PAL-22S

3.4.3 ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solids)

ปริมาณของแข็งในน้ำผึ้งในหน่วยเปอร์เซ็นต์ (%) สามารถคำนวณหาได้จากสมการ

ปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำผึ้ง (%) = 100 – ปริมาณความชื้นในน้ำผึ้ง

3.4.4 ค่าการนำไฟฟ้า (Conductivity)

เตรียมสารละลายน้ำผึ้ง 20% โดยมวลต่อปริมาตร ในน้ำกลั่น วัดค่าการนำไฟฟ้าด้วยเครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (Conductometer) ในหน่วย $mS{\cdot}cm^{-1}$

3.4.5 ปริมาณเถ้า (Ash content)

ชั่งน้ำผึ้ง 5 กรัม ลงในถ้วยกระเบื้อง นำไปเผาในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 30-45 นาที ชั่งน้ำหนักแห้งจนน้ำหนักคงที่ คำนวณปริมาณเถ้าดังสมการ

%ปริมาณเถ้า = (น้ำหนักเถ้าหลังเผา/ น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา) x 100

3.4.6 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar content)

เตรียมสารละลายน้ำผึ้ง 25% โดยมวลต่อปริมาตร ในน้ำกลั่น วัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในน้ำผึ้งด้วยหลักการ Refractometric method ด้วยเครื่อง Digital refractometer Atago PAL-3 แสดงค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในน้ำผึ้งในหน่วยกรัม/ 100 กรัม น้ำผึ้ง

3.4.7 ความเข้มสี (Color intensity ABS450)

เตรียมสารละลายน้ำผึ้ง 50% โดยมวลต่อปริมาตร ในน้ำกลั่น กรองสารละลายน้ำผึ้งผ่านแผ่นกรอง Whatman ขนาด 0.45 ไมครอน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 และ 720 นาโนเมตร ด้วย Spectrophotometer คำนวณหาผลต่างของการดูดกลืนแสงที่สองความยาวคลื่นและแสดงผลในหน่วย mAU

3.4.8 สีของน้ำผึ้ง (Honey color analysis)

เตรียมสารละลายน้ำผึ้ง 50% โดยมวลต่อปริมาตร ในน้ำกลั่น กรองสารละลายน้ำผึ้งผ่านแผ่นกรอง Whatman ขนาด 0.45 ไมครอน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 635 นาโนเมตร ด้วย spectrophotometer คำนวณหาค่า Pfund ดังสมการ

$$Pfund = -38.70 + (371.39 \times Abs_{635})$$

จากนั้นนำค่าที่ได้ไปเทียบระดับสีของน้ำผึ้งซึ่งมี 7 ระดับ ดังภาพที่ 3.5

ภาพที่ 3.5 ระดับความเข้มสีของน้ำผึ้ง (Pfund scale of honey) 7 ระดับ โดย USDA (ที่มา https://www.behonex.vn/en/colour-grading-of-honey.html)

3.5 การตรวจวิเคราะห์สมบัติของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งที่ได้

คุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรถูกนำมาตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการดังนี้

3.5.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดถูกวิเคราะห์ด้วยการใช้ Folin-Ciocalteu Reagent โดยนำสารละลายน้ำผึ้งความเข้มข้น 0.2 กรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมเข้ากับสารละลาย Folin-Ciocalteu Reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรสุดท้าย 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที แล้วจึงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (gallic acid) ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80,100 มิลลิกรัม/ลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกในตัวอย่างน้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม (mg gallic acid equivalent/1 kg honey)

3.5.2 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content)

ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดถูกวิเคราะห์ โดยนำสารละลายน้ำผึ้งความเข้มข้น 0.2 กรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่นปริมาตร 4 มิลลิลิตร จากนั้นผสมเข้ากับสารละลายโซเดียมไนเตรท ($NaNO_2$) เข้มข้นร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม

สารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) เข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2.4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วจึงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของคาทิชิน (catechin) ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80,100 มิลลิกรัม/ลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของคาทิชินในตัวอย่างน้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม (mg catechin equivalent/1 kg honey)

3.5.3 การตรวจวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH)

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งถูกวิเคราะห์ โดยนำสารละลายน้ำผึ้งความเข้มข้น 0.2 กรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ความเข้มข้น 0.024 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในเมทานอล ปริมาตร 2.7 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แล้วจึงคำนวณค่า % radical scavenging activity (RSA) ดังสมการ

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = [(A0 - A1)/ A0] \times 100$$

โดยที่ A0 = ค่าการดูดกลืนแสงควบคุม

A1 = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างน้ำผึ้ง

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะแสดงเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50%

3.5.4 การตรวจวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

เตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสมสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ (Acetate buffer) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ pH 3.6 สารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_20$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ จากนั้นนำสารละลายน้ำผึ้งความเข้มข้น 0.1 กรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 ^{o}C เป็นเวลา 4 นาที นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) ความเข้มข้น 100, 200, 400, 600, 1000 ไมโครโมล/ลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่าไมโครโมลาร์สมมูลของเฟอรัสในตัวอย่างน้ำผึ้ง 100 กรัม (µmol Fe^{2+} equivalent/100 g honey)

3.5.5 การตรวจวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ascorbic acid Equivalent Antioxidant Capacity (AEAC)

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งถูกวิเคราะห์ โดยนำสารละลายน้ำผึ้งความเข้มข้น 0.3 กรัม/มิลลิลิตร ในเมทานอล ปริมาตร 0.75 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ความเข้มข้น 0.02 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในเมทานอล ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิค (L-ascorbic acid) ความเข้มข้น 100, 200, 400, 600, 800, 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิคในตัวอย่างน้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม (mg ascorbic equivalent/1 kg honey)

3.5.6 ปริมาณกรดแอสคอร์บิค (Ascorbic acid content)

ปริมาณกรดแอสคอร์บิคถูกวิเคราะห์ โดยนำน้ำผึ้งปริมาณ 100 มิลลิกรัม ผสมเข้ากับกรดเมทาฟอสฟอริก (mataphosphoric acid) เข้มข้นร้อยละ 1 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 45 นาที กรองสารละลายผ่านแผ่นกรอง Whatman เบอร์ 4 จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้เติมลงในสารละลาย2,6-dichlorophenolindophenol (DCPIP) เข้มข้นร้อยละ 0.005 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วจึงนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิค (L-ascorbic acid) ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 300, 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแอสคอร์บิคในตัวอย่างน้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม (mg ascorbic acid equivalent/1 kg honey)

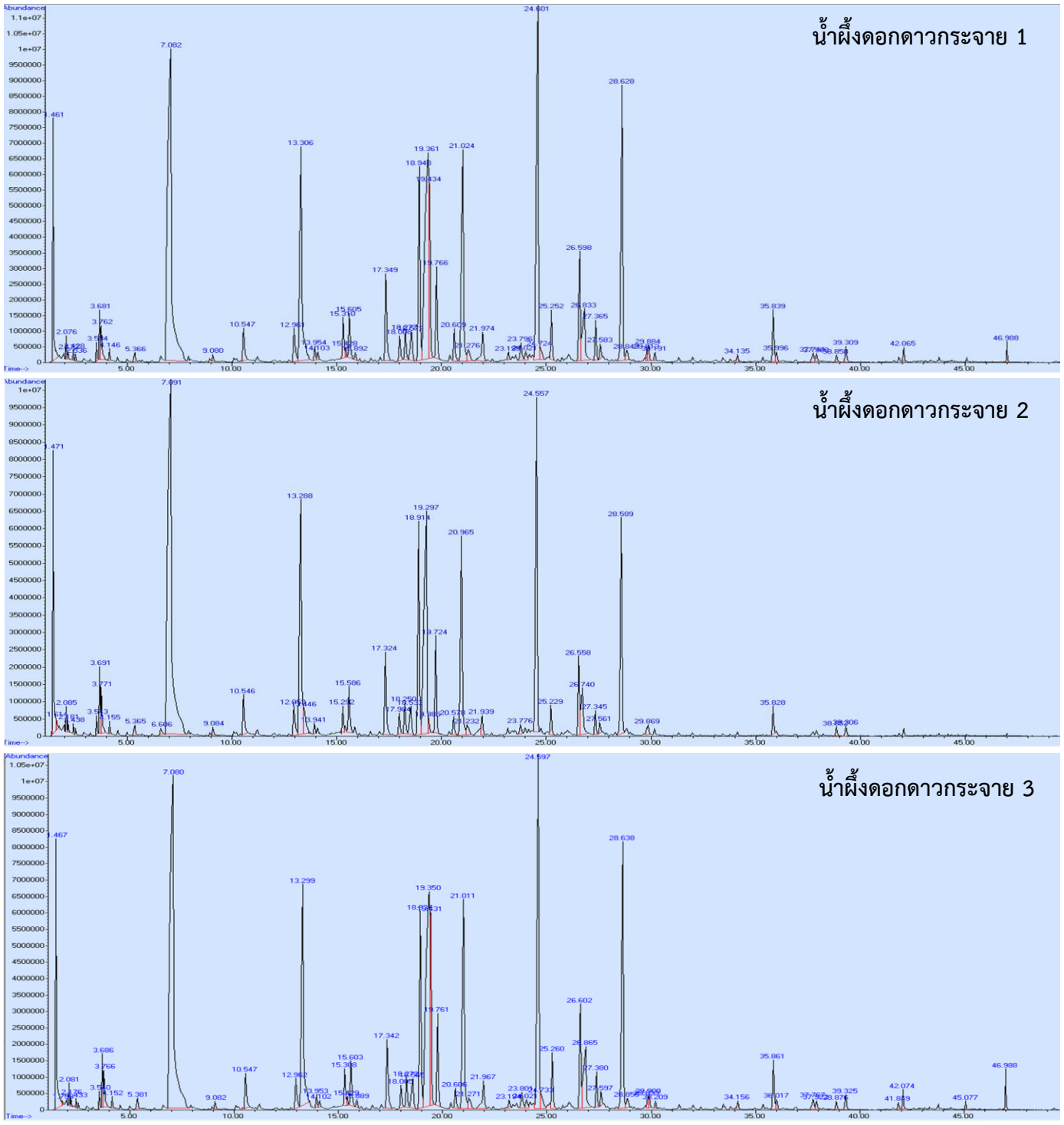
3.6 การทดสอบสหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson correlation) ของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพกับคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร

ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรแสดงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพกับคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร (น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกมานูก้า) ซึ่งมีจำนวน 7 ตัว ได้แก่ total phenolic, total flavonoid, DPPH, FRAP, AEAC, ascorbic acid, ABS_{450} เพื่อเป็นการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร โดยทำการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Minitab19 (Minitab, LLC; USA)

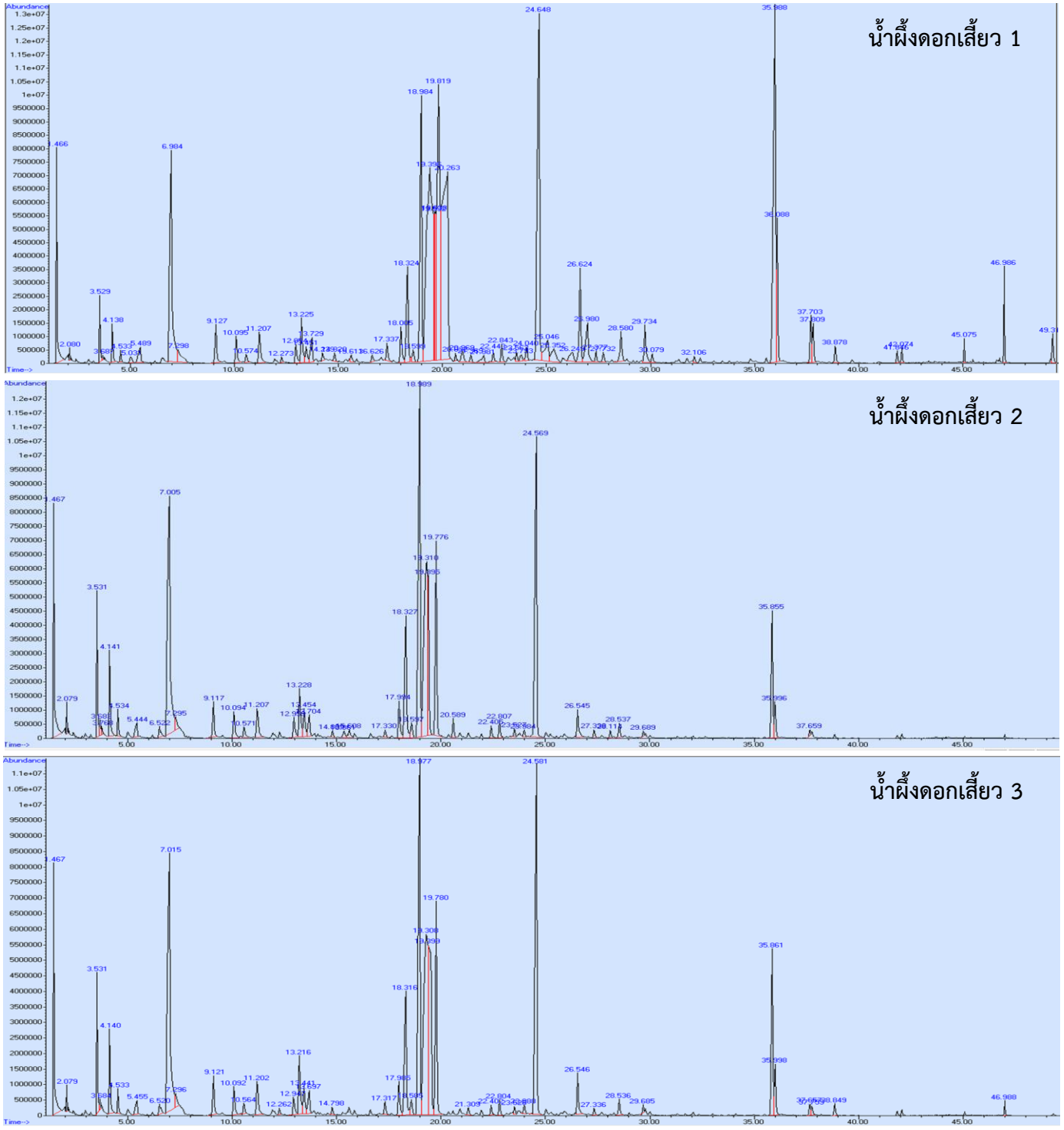
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล
(Results and Discussion)

4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบสารเฉพาะตัวในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรด้วยเทคนิคแกสโครมาโทรกราฟฟ/แมสสเปคโทรเมทรี (Gas Chromatograghy/ Mass spectrometry; GC-MS)

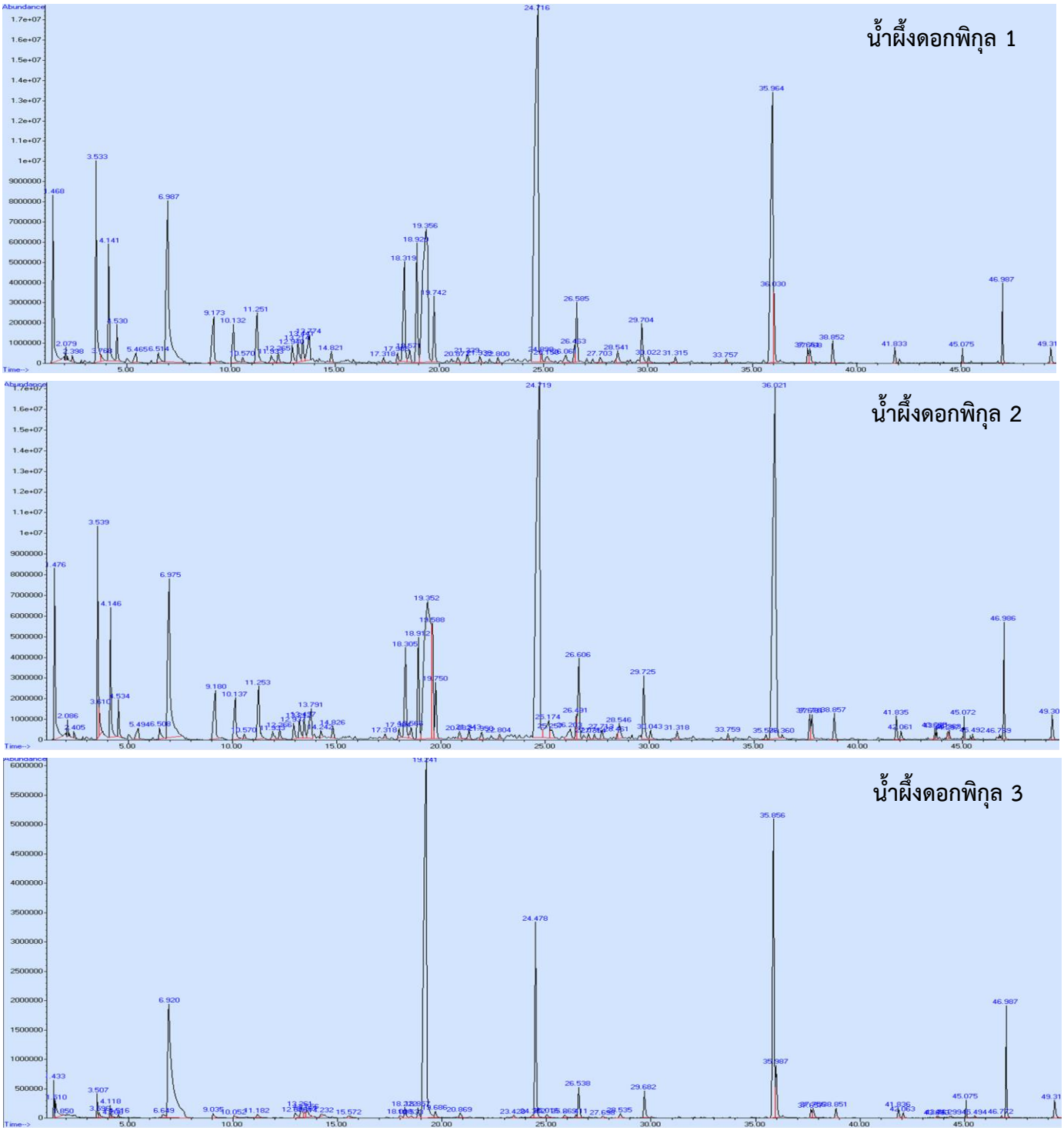
โครมาโทแกรมของสารองค์ประกอบในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร (น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล) ที่ถูกแยกออกมาในเวลาต่างๆเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS แสดงดังภาพที่ 4.1-4.3



ภาพที่ 4.1 โครมาโตแกรมของสารองค์ประกอบในน้ำผึ้งดอกดาวกระจายที่ได้จากเครื่อง GC-MS



ภาพที่ 4.2 โครมาโตแกรมของสารองค์ประกอบในน้ำผึ้งดอกเสี้ยวที่ได้จากเครื่อง GC-MS



ภาพที่ 4.3 โครมาโตแกรมของสารองค์ประกอบในน้ำผึ้งดอกพิกุลที่ได้จากเครื่อง GC-MS

4.2 สารองค์ประกอบในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร (น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล) ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS

จากการวิเคราะห์น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว และน้ำผึ้งดอกพิกุล ด้วยเทคนิค GC-MS พบสารองค์ประกอบ 38 ชนิด ในน้ำผึ้งซึ่งเป็นสารองค์ประกอบในกลุ่มอะลิแฟติก (aliphatic), อะโรแมติก (aromatic), อะไซคลิก (acyclic), ไซคลิก (cyclic), อนุพันธ์ของออกซิเจน (oxygenated derivatives), อนุพันธ์ของฟิวแรน (furan derivatives), สารที่มีซัลเฟอร์และไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (sulfur and nitrogen-containing compounds) โดยน้ำผึ้งแต่ละชนิดจะมีสารองค์ประกอบแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 4.1 นอกจากนี้ยังพบสารองค์ประกอบเฉพาะในน้ำผึ้งดอกดาวกระจาย (12 ชนิด) น้ำผึ้งดอกเสี้ยว (2 ชนิด) และน้ำผึ้งดอกพิกุล (8 ชนิด) จากสารองค์ประกอบ 38 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 4.2 โดยสารองค์ประกอบเฉพาะในน้ำผึ้งดอกดาวกระจายจะประกอบด้วยสารประกอบในกลุ่มเอสเทอร์ (ester) แอลดีไฮด์ (aldehyde) คีโตน (ketone) แอลกอออล์ (alcohol) อนุพันธ์ของฟิวแรน (furan) อนุพันธ์ของไพโรล (pyrrole) อนุพันธ์ของเบนซิน (benzene) น้ำผึ้งดอกเสี้ยวจะประกอบด้วยสารประกอบในกลุ่มแอลดีไฮด์ (aldehyde) น้ำผึ้งดอกพิกุลจะประกอบด้วยสารประกอบในกลุ่มเอสเทอร์ (ester) แอลดีไฮด์ (aldehyde) แอลกอออล์ (alcohol) อนุพันธ์ของแนพทาลีน (naphthalene)

ตารางที่ 4.1 สารองค์ประกอบในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร (น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล) ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS

	สารองค์ประกอบ	น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย	น้ำผึ้งดอกเสี้ยว	น้ำผึ้งดอกพิกุล	มวลโมเลกุล (กรัม/ โมล)	สูตรเคมี
1	Furfural	X	X	X	96.08	$C_5H_4O_2$
2	2-Acetylfuran	X			110.11	$C_6H_6O_2$
3	Benzaldehyde	X	X	X	106.12	C_7H_6O
4	5-Methylfurfural	X	X	X	110.11	$C_6H_6O_2$
5	Ethyl hexanoate	X			144.21	$C_8H_{16}O_2$
6	Phenylacetaldehyde	X	X	X	120.15	C_8H_8O
7	Ethyl 2-furoate	X	X	X	140.14	$C_7H_8O_3$
8	2-Acetylpyrrole	X			109.13	C_6H_7NO
9	Furan-2,5-dicarbaldehyde	X	X		124.09	$C_6H_4O_3$
10	Orcinol			X	124.14	$C_7H_8O_2$
11	Ethyl 2-(5-methyl-5-vinyltetrahydrofuran-2-yl)propan-2-yl carbonate	X	X	X	242.31	$C_{13}H_{22}O_4$
12	nonanal		X		142.24	$C_9H_{18}O$
13	3-(2-Furyl)acrolein			X	122.12	$C_7H_6O_2$
14	2-Phenylethanol	X	X		122.16	$C_8H_{10}O$
15	Isophorone	X			138.21	$C_9H_{14}O$
16	(2S,2'R,5'S)-Lilac aldehyde (Lilac aldehyde C)		X		168.23	$C_{10}H_{16}O_2$
17	Ethyl benzoate	X			150.17	$C_9H_{10}O_2$
18	(2Z)-2-Benzylidene-butanedioic acid diethyl ester	X		X	262.3	$C_{15}H_{18}O_4$
19	Ethyl octanoate	X			172.26	$C_{10}H_{20}O_2$
20	5-Hydroxymethylfurfural	X	X		126.11	$C_6H_6O_3$

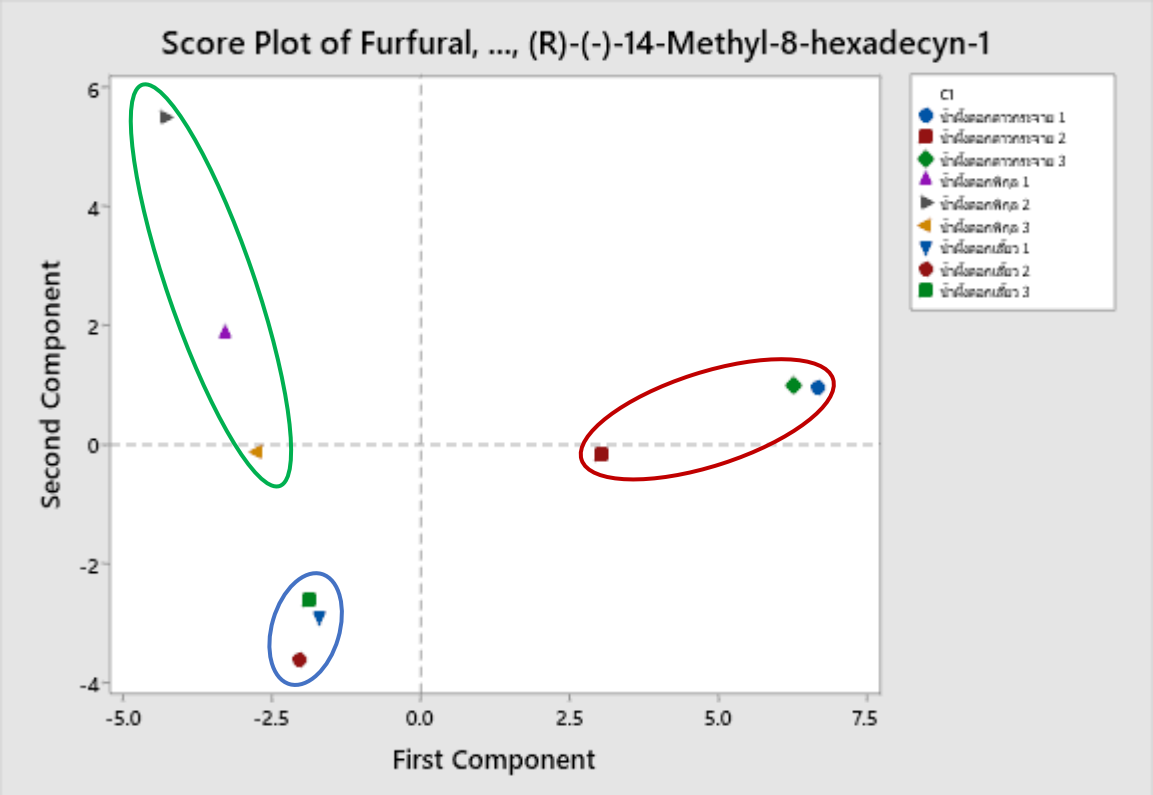
	สารองค์ประกอบ	น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย	น้ำผึ้งดอกเสี้ยว	น้ำผึ้งดอกพิกุล	มวลโมเลกุล (กรัม/ โมล)	สูตรเคมี
21	Ethyl phenylacetate	X	X	X	164.2	$C_{10}H_{12}O_2$
22	2-Phenylbutan-1-ol	X			150.22	$C_{10}H_{14}O$
23	2-Propenal, 3-methyl-3-phenyl-			X	146.19	$C_{10}H_{10}O$
24	Ethyl nonanoate	X			186.29	$C_{11}H_{22}O_2$
25	Benzeneacetaldehyde, alpha-ethylidene-	X	X	X	146.19	$C_{10}H_{10}O$
26	Ethyl decanoate	X			200.32	$C_{12}H_{24}O_2$
27	beta-Ionone	X			192.3	$C_{13}H_{20}O$
28	5-Methyl-2-phenylhex-2-enal	X			188.26	$C_{13}H_{16}O$
29	2,4-Di-tert-butylphenol	X	X	X	206.32	$C_{14}H_{22}O$
30	Dihydroactinidiolide	X			180.24	$C_{11}H_{16}O_2$
31	Diethyl suberate	X	X	X	230.3	$C_{12}H_{22}O_4$
32	1,3-Diisopropylnaphthalene			X	212.33	$C_{16}H_{20}$
33	1,4-Diisopropylnaphthalene			X	213.33	$C_{16}H_{20}$
34	2,6-Diisopropylnaphthalene			X	212.33	$C_{16}H_{20}$
35	Ethyl tetradecanoate	X	X	X	256.42	$C_{16}H_{32}O_2$
36	2-Decenedioic acid, diethyl ester			X	256.339	$C_{14}H_{24}O_4$
37	Ethyl laurate	X		X	228.37	$C_{14}H_{28}O_2$
38	(R)-(-)-14-Methyl-8-hexadecyn-1-ol			X	252.4	$C_{17}H_{32}O$

ตารางที่ 4.2 สารองค์ประกอบเฉพาะที่พบในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร (น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล) แต่ละชนิดจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS

	น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย	**น้ำผึ้งดอกเสี้ยว**	**น้ำผึ้งดอกพิกุล**
1	2-Acetylfuran	Nonanal	Orcinol
2	Ethyl hexanoate	(2S,2'R,5'S)-Lilac aldehyde (Lilac aldehyde C)	3-(2-Furyl)acrolein
3	2-Acetylpyrrole		2-Propenal, 3-methyl-3-phenyl-
4	Isophorone		1,3-Diisopropylnaphthalene
5	Ethyl benzoate		1,4-Diisopropylnaphthalene
6	Ethyl octanoate		2,6-Diisopropylnaphthalene
7	2-Phenylbutan-1-ol		2-Decenedioic acid, diethyl ester
8	Ethyl nonanoate		(R)-(-)-14-Methyl-8-hexadecyn-1-ol
9	Ethyl decanoate		
10	beta-Ionone		
11	5-Methyl-2-phenylhex-2-enal		
12	Dihydroactinidiolide		

4.3 การวิเคราะห์ส่วนประกอบหลักเพื่อทำการจัดกลุ่มน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร

ส่วนประกอบหลักที่ 1 (PC1) และส่วนประกอบหลักที่ 2 (PC2) ของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรจำนวน 9 ตัวอย่างถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์จัดกลุ่มน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร โดยพิจารณาจากตัวแปรสารองค์ประกอบในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร 38 ตัวที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS เมื่อพิจารณาแผนภาพคะแนนระหว่างส่วนประกอบหลักที่ 1 และส่วนประกอบหลักที่ 2 (ภาพที่ 4.4) พบว่าสามารถทำการจัดกลุ่มน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรจำนวน 9 ตัวอย่าง ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล ซึ่งการจัดกลุ่มนี้เป็นการยืนยันการจัดกลุ่มน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรตามแหล่งพืชอาหารของผึ้ง อันได้แก่ ดอกดาวกระจาย ดอกเสี้ยว ดอกพิกุล



ภาพที่ 4.4 แผนภาพคะแนน (score plot) ระหว่างส่วนประกอบหลักที่ 1 (PC1) และส่วนประกอบหลักที่ 2 (PC2) ของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร (น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล)

4.4 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำผึ้ง

การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายจากแหล่งในพื้นที่จังหวัดราชบุรี ประเทศไทย และน้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์ ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรจำนวน 4 ชนิด

ตัวอย่างน้ำผึ้ง	ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	ปริมาณความชื้น (%)	ปริมาณของแข็งทั้งหมด (%)	ค่าการนำไฟฟ้า (mS/cm)	ปริมาณเถ้า (กรัม/100 กรัม น้ำผึ้ง)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (%)	ความเข้มสี ABS_{450} (mAU)
น้ำผึ้งดอกเสี้ยว	3.57±0.02	29.0±0.46	71.0±0.46	0.550±0.00	0.32±0.01	71.9±0.53	382±5.26
น้ำผึ้งดอกพิกุล	3.46±0.06	32.5±0.23	67.5±0.23	0.484±0.02	0.28±0.01	68.5±0.67	412±4.71
น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย	3.22±0.01	27.0±0.12	73.0±0.12	0.796±0.01	1.17±0.03	73.5±0.72	791±10.55
น้ำผึ้งดอกมานูก้า (นิวซีแลนด์)	3.84±0.01	18.8±0.38	81.2±0.38	0.864±0.00	1.34±0.05	80.6±0.46	734±8.63

ผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำ มีการแสดงในรูปของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean±S.D.)

จากตารางที่ 4.3 พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 3.22-3.84 ซึ่งมีสมบัติเป็นกรด โดยน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีค่าความเป็นกรดสูงที่สุด (pH 3.22) และน้ำผึ้งดอก

มานูก้ามีค่าความเป็นกรดต่ำที่สุด (pH 3.84) นอกจากนี้ยังพบว่าผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของน้ำผึ้งจากประเทศมาเลเซีย (pH 3.53-4.03) (Saxena et al., 2010) อินเดีย (pH 3.7-4.4) (Saxena et al., 2010) บังคลาเทศ (pH 3.9-4.4) (Islam et al., 2012) แอลจีเรีย (pH 3.70-4.00) (Khalil et al., 2012) ที่มีสมบัติเป็นกรดเช่นกัน ความเป็นกรดของน้ำผึ้งเกิดจากขั้นตอนการหมักน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในน้ำผึ้งไปเป็นกรดออร์แกนิค และสภาวะความเป็นกรดนี้จะช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ จึงอาจมีความเป็นไปได้ว่าน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร (ดอกดาวกระจาย ดอกพิกุล ดอกเสี้ยว) จะเป็นน้ำผึ้งที่มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (antibacterial agents) ที่ดี

ปริมาณความชื้นของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 18.8-32.5% โดยน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีความชื้นสูงถึง 29.0, 32.5 และ 27.0% ตามลำดับ โดยตามมาตรฐานสากลน้ำผึ้งควรจะมีปริมาณความชื้น ≤20% (Alimentarius, 2001) ในขณะที่น้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีปริมาณความชื้น 18.8% รายงานการวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าน้ำผึ้งจากประเทศแทนซาเนียมีปริมาณความชื้นสูงอยู่ในช่วง 21.6-22.8% (Gidamis et al., 2004) น้ำผึ้งจากประเทศเนปาลมีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วง 17.14-21.51% (Joshi et al., 2000) Ajlounia and Sujirapinyokul (2010) ได้กล่าวว่าปริมาณความชื้นในน้ำผึ้งที่แตกต่างกันได้รับอิทธิพลมาจากแหล่งพืชอาหาร (botanical source) สภาพพื้นที่ (geographical conditions) สภาพอากาศ (climatic conditions) และฤดูกาล (season) ที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยของ Joshi (2014) ซึ่งกล่าวว่าชนิดหรือสายพันธุ์ของผึ้งมีอิทธิพลต่อปริมาณความชื้นในน้ำผึ้ง โดยผู้วิจัยพบว่าน้ำผึ้งที่ได้จากผึ้งหลวง *A. dorsata* มีปริมาณความชื้นในน้ำผึ้งสูงกว่าน้ำผึ้งที่ได้จากผึ้งโพรง *A. cerena* และผึ้งพันธุ์ *A. mellifera* (21.51, 20.12 และ 17.14% ตามลำดับ) ก็พบว่าน้ำผึ้งชันโรงที่ได้จากชันโรง *Trigona* spp. มีปริมาณความชื้นในน้ำผึ้งสูงกว่าน้ำผึ้งป่า Tualang ที่ได้จากผึ้งหลวง *A. dorsata* และน้ำผึ้งดอกมานูก้าที่ได้จากผึ้งพันธุ์ *A. mellifera* (25.00-31.00, 23.30 และ 18.70% ตามลำดับ) จากรายงานการวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นค่าปริมาณความชื้นที่สูงในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร (ดอกเสี้ยว ดอกพิกุล ดอกดาวกระจาย) ที่ได้จากผึ้งมิ้ม *A. florea* อาจเนื่องมาจากอิทธิพลของแหล่งพืชอาหารที่เป็นดอกไม้สมุนไพร สภาพพื้นที่ สภาพอากาศ ที่แตกต่างกัน เมื่อนำค่าปริมาณความชื้นในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรมาเปรียบเทียบกับน้ำผึ้งดอกมานูก้า (ประเทศนิวซีแลนด์) ซึ่งได้มาจากผึ้งพันธุ์ *A. mellifera* มีปริมาณความชื้นเพียง 18.8% จึงเป็นไปได้ว่าสายพันธุ์ของผึ้งอาจมีอิทธิพลต่อปริมาณความชื้นในน้ำผึ้งอีกด้วย

ปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 67.5-81.2% โดยน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีปริมาณของแข็งทั้งหมด 71.0, 67.5 และ 73% ตามลำดับ ส่วนน้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 81.2%

ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 0.484-0.796 mS/cm โดยน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีค่าการนำไฟฟ้า 0.550, 0.484 และ 0.796 mS/cm ตามลำดับ โดยตามมาตรฐานสากลน้ำผึ้งควรจะมีค่าการนำไฟฟ้า < 0.8 mS/cm (Alimentarius, 2001) ในขณะที่น้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีค่าการนำไฟฟ้า 0.864 mS/cm ค่าการนำไฟฟ้าโดยปกติจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณแร่ธาตุที่พบในน้ำผึ้ง ถ้าในน้ำผึ้งมีปริมาณแร่ธาตุสูงจะทำให้ค่าการนำไฟฟ้าที่วัดได้มีค่าสูงขึ้นด้วย (Moriruzzaman et al., 2013) นอกจากนี้ค่าการนำไฟฟ้ายังถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้ของแหล่งพืชอาหารของผึ้งอีกด้วย น้ำผึ้งจากน้ำหวานของเกสรดอกไม้ (blossom honey) และน้ำผึ้งที่ได้จากน้ำคั้นจากพืชหรือน้ำหวานที่ขับออกจากส่วนของต้นไม้ที่มีชีวิต (honeydew honey) ควรจะมีค่าการนำ

ไฟฟ้า < 0.8 mS/cm ตามมาตรฐานสากล (Islam et al., 2012) ซึ่งน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีค่าการนำไฟฟ้าอยู่ในเกณฑ์ตามมาตรฐาน

ปริมาณเถ้าของน้ำผึ้งเป็นตัวบ่งชี้ปริมาณแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในน้ำผึ้ง โดยแร่ธาตุที่แตกต่างกันในน้ำผึ้งขึ้นกับกระบวนการเลี้ยงผึ้ง กระบวนการเก็บน้ำผึ้ง กระบวนการหาอาหารของผึ้งเอง (Finola et al., 2007) และอาจขึ้นกับคุณภาพดินที่ใช้ปลูกพืชอาหาร (Anklam, 1998) ตามมาตรฐานสากลน้ำผึ้งจากน้ำหวานของเกสรดอกไม้ (blossom honey) ควรมีปริมาณเถ้า ≤0.6% และน้ำผึ้งที่ได้จากน้ำคั้นจากพืชหรือน้ำหวานที่ขับออกจากส่วนของต้นไม้ที่มีชีวิต (honeydew honey) ควรมีปริมาณเถ้า ≥1.2% (Ouchemoukh et al., 2007) ปริมาณเถ้าของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 0.28-1.34% โดยน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีปริมาณเถ้า 0.32, 0.28 และ 1.17% ตามลำดับ น้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีปริมาณเถ้า 1.34%

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 68.5-73.5% โดยน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 71.9, 68.5 และ 73.5% ตามลำดับ น้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 80.6% โดยตามมาตรฐานสากลน้ำผึ้งควรจะมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ≥60% (Alimentarius, 2001) ทั้งนี้น้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิดอยู่ในเกณฑ์ตามมาตรฐานสากล มีรายงานก่อนหน้านี้พบว่าน้ำผึ้งจากประเทศแอลจีเรียมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดอยู่ในช่วง 62.8-70.0% (Khalil et al., 2012) น้ำผึ้งจากประเทศบังคลาเทศมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดอยู่ในช่วง 66.2-72.6% (Islam et al., 2017) ซึ่งปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในน้ำผึ้งเป็นตัวบ่งชี้ความหวานของน้ำผึ้งซึ่งต้องใช้การทดสอบทางกายภาพ เช่น การชิมร่วมด้วย

น้ำผึ้งธรรมชาติโดยทั่วไปมีระดับความเข้มสีที่หลากหลายตั้งแต่สีเหลืองอ่อนไปจนถึงสีน้ำตาลเข้มหรือเกือบดำ ความเข้มสีของน้ำผึ้ง (ABS_{450}) ถูกนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้รงควัตถุที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในน้ำผึ้ง เช่น ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant properties) ผลการทดลองพบว่าความเข้มสีของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 382-791 mAU โดยน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีความเข้มสี 382, 412 และ 791 mAU น้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีความเข้มสี 734 mAU น้ำผึ้งที่มีความเข้มของสีมากจึงมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าน้ำผึ้งที่มีความเข้มสีน้อย

นอกจากนี้ยังมีการแบ่งลักษณะสีของน้ำผึ้งตามมาตรฐานของ USDA ด้วย Pfund scale ซึ่งมี 7 ระดับ ดังภาพที่ 4.5 และสีของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรจำนวน 4 ชนิด แสดงดังในตารางที่ 4.4 ค่าสีของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 46.35-161.11 mm Pfund โดยน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีค่าสี 46.35, 112.83 และ 161.11 mm Pfund ตามลำดับ น้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีค่าสีอยู่ที่ 145.42 mm Pfund น้ำผึ้งที่มีค่า Pfund สูงจะมีความเข้มสีมาก ส่วนน้ำผึ้งที่มีค่า Pfund ต่ำ จะมีความเข้มสีน้อย โดยค่า Pfund ที่สูงและความเข้มสีที่มากเป็นตัวบ่งชี้ว่าน้ำผึ้งนั้นมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระมากเนื่องจากน้ำผึ้งนั้นมีองค์ประกอบของสารประกอบฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ในปริมาณมาก และอาจเป็นไปได้ว่าสีของน้ำผึ้งขึ้นกับชนิดของแหล่งพืชอาหารของผึ้ง

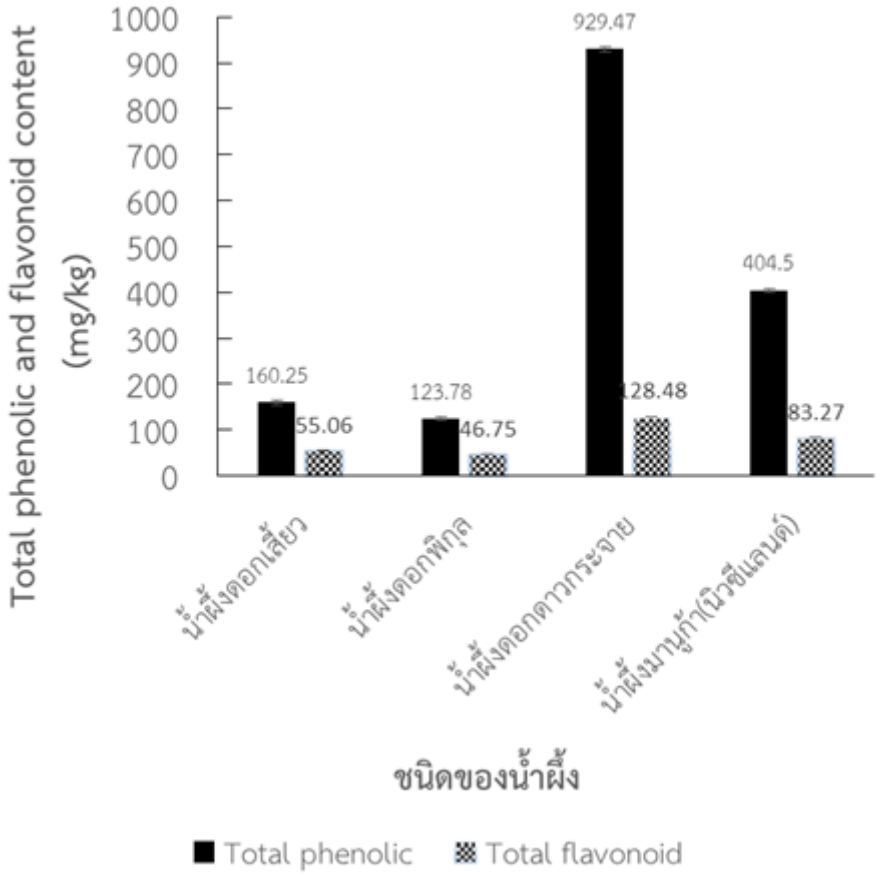
ภาพที่ 4.5 ระดับความเข้มสีของน้ำผึ้ง (Pfund scale of honey) 7 ระดับ โดย USDA (ที่มา https://www.behonex.vn/en/colour-grading-of-honey.html)

ตารางที่ 4.4 สีของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรจำนวน 4 ชนิด

ตัวอย่างน้ำผึ้ง	Color (mm Pfund)	Color
น้ำผึ้งดอกเสี้ยว	46.35±0.22	Extra light amber
น้ำผึ้งดอกพิกุล	112.83±0.30	Amber
น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย	161.11±0.39	Dark amber
น้ำผึ้งดอกมานูก้า (นิวซีแลนด์)	145.42±0.75	Dark amber

4.5 การศึกษาคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร

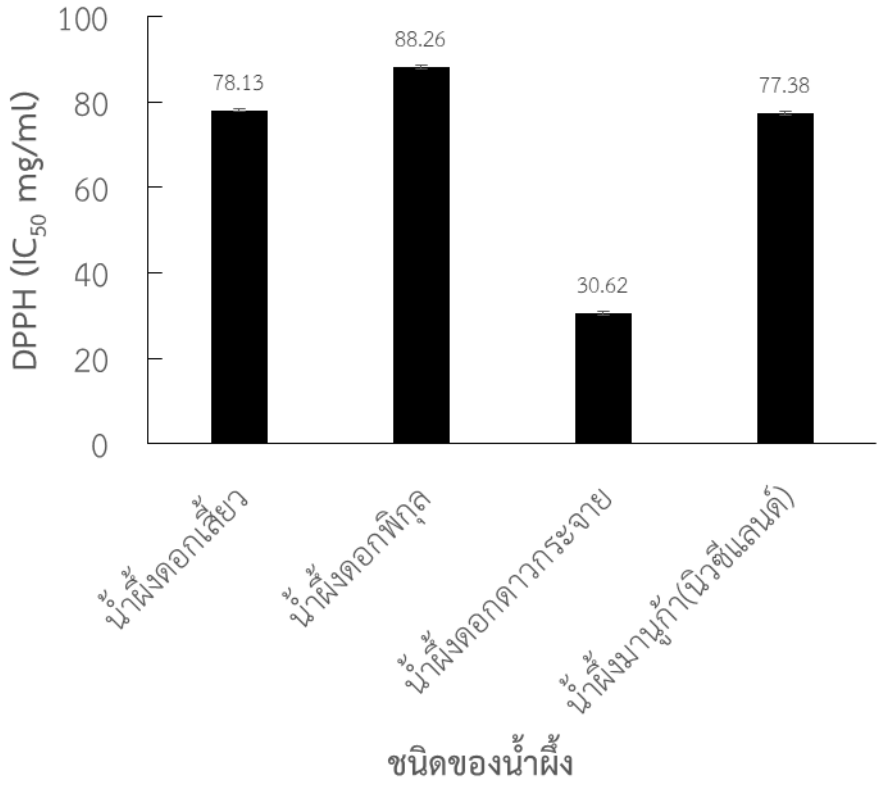
การศึกษาคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายจากแหล่งในพื้นที่จังหวัดราชบุรี ประเทศไทย และน้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์ ได้ผลแสดงดังภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 ปริมาณฟีโนลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร
ผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำ มีการแสดงในรูปของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean±S.D.)

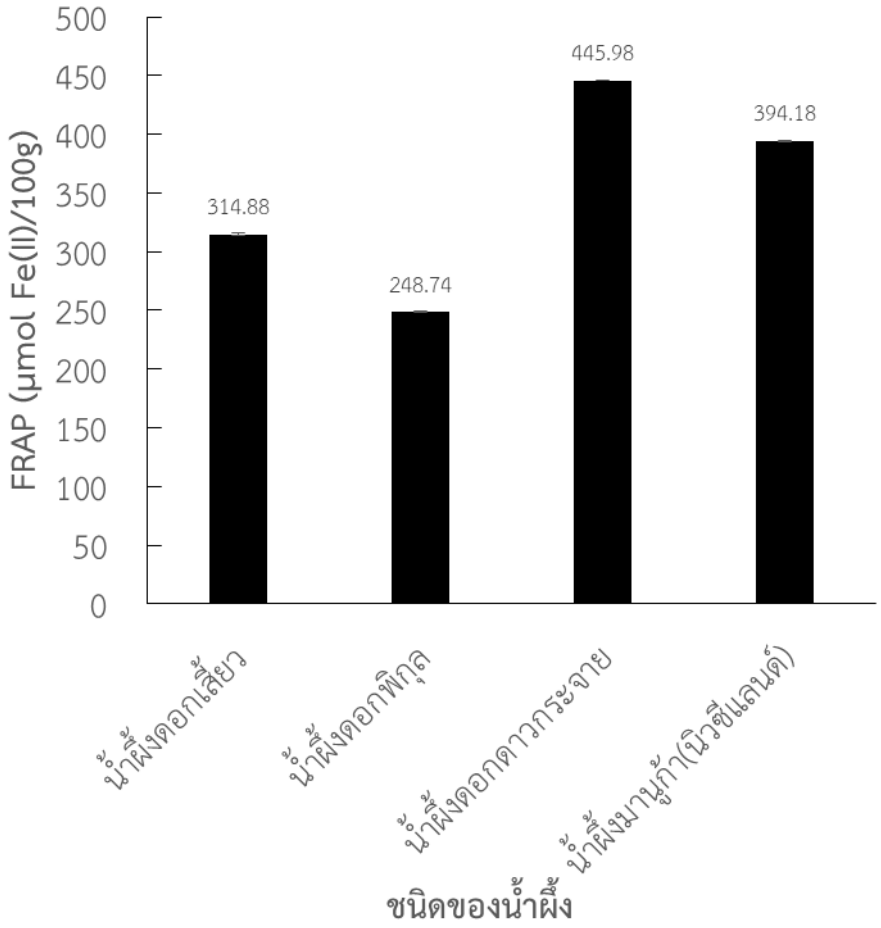
จากภาพที่ 4.6 พบว่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 123.78-929.47 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม โดยน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดสูงที่สุด (929.47 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม) และน้ำผึ้งดอกพิกุลมีปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดต่ำที่สุด (123.78 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม) ส่วนน้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด 405.5 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม รายงานการวิจัยของน้ำผึ้งจากประเทศมาเลเซีย พบว่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดในน้ำผึ้งอยู่ในช่วง 186.70-352.73 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม (Moniruzzaman et al., 2013) บังคลาเทศ (152.4-688.5 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม) (Islam et al., 2012) แอลจีเรีย (411.1-498.16 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม) (Khalil et al., 2012) เมื่อเทียบปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดของน้ำผึ้งดอกดาวกระจายกับน้ำผึ้งจากประเทศอื่นๆและน้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์พบว่าน้ำผึ้งดอกดาวกระจายเป็นน้ำผึ้งอีกหนึ่งชนิดที่จัดว่ามีคุณภาพสูงเนื่องจากมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูง จากการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรทั้ง 4 ชนิด พบว่าน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรทั้ง 4 ชนิดมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดต่ำกว่าปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด โดยมีค่าอยู่ในช่วง 46.75-128.48 มิลลิกรัมของคาทิชิน/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม โดยน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด (128.48 มิลลิกรัมของคาทิชิน/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม) และน้ำผึ้งดอกพิกุลมีปริมาณฟลาโวนอยด์ต่ำที่สุด (46.75 มิลลิกรัมของคาทิชิน/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม)

ทั้งนี้ปริมาณฟีโนลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่แตกต่างกันในน้ำผึ้งแต่ละชนิดอาจเกิดจากความแตกต่างของแหล่งพืชอาหารของผึ้ง



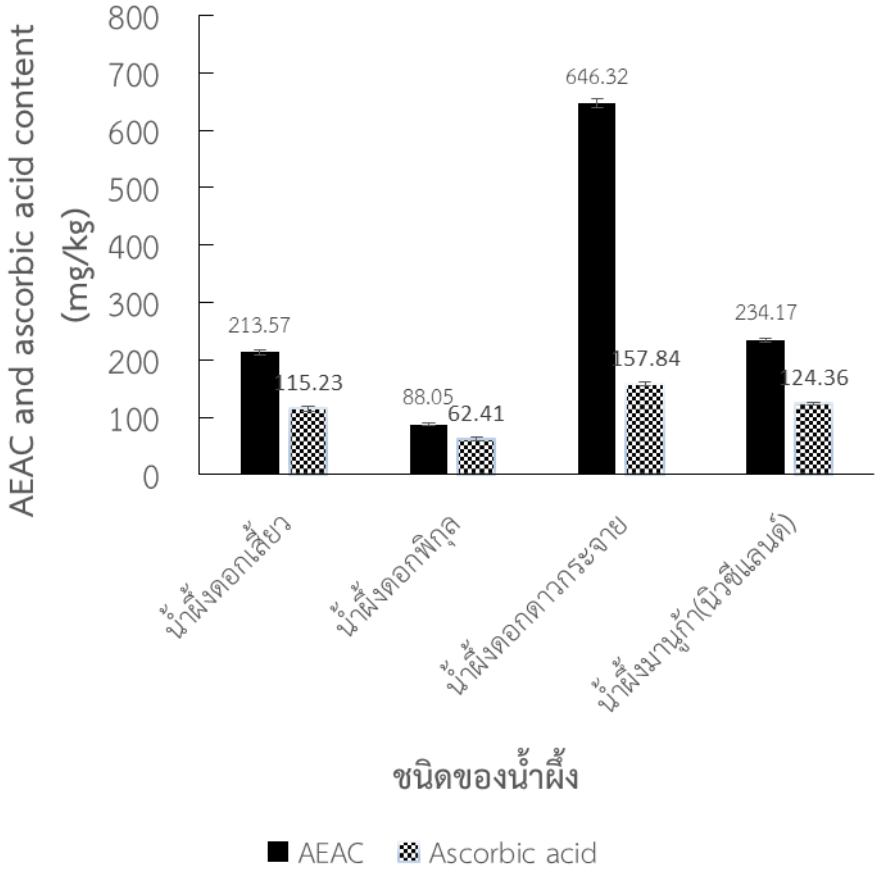
ภาพที่ 4.7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) assay ของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร
ผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำ มีการแสดงในรูปของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean±S.D.)

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรโดยวิธี DPPH assay พบว่าน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) เท่ากับ 30.62 มิลลิกรัม/น้ำผึ้ง 1 มิลลิลิตร ดังภาพที่ 4.7 ในขณะที่น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกมานูก้า (นิวซีแลนด์) มีค่าความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) เท่ากับ 78.13, 88.26 และ 77.38 มิลลิกรัม/น้ำผึ้ง 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ



ภาพที่ 4.8 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) assay ของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร
ผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำ มีการแสดงในรูปของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean±S.D.)

การศึกษาความสามารถในการให้อิเล็กตรอนเมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP assay ของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรพบว่าน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเนื่องจากน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีค่า FRAP สูงที่สุด เท่ากับ 445.98 µmol Fe^{2+}/น้ำผึ้ง 100 กรัม ดังภาพที่ 4.8 ในขณะที่น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกมานูก้า (นิวซีแลนด์) มีค่า FRAP เท่ากับ 314.88, 248.74 และ 394.18 µmol Fe^{2+}/ น้ำผึ้ง 100 กรัม ตามลำดับ



ภาพที่ 4.9 ปริมาณแอนตี้ออกซิแดนท์โดยวิธี Assessment of Ascorbic acid Equivalent Antioxidant Capacity (AEAC) และปริมาณกรดแอสคอร์บิกในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร
ผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำ มีการแสดงในรูปของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean±S.D.)

จากภาพที่ 4.9 พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรโดยวิธี AEAC assay อยู่ในช่วง 88.05-646.32 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม โดยน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ 646.32 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม และปริมาณกรดแอสคอร์บิกในของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรอยู่ในช่วง 62.41-157.84 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม น้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีปริมาณกรดแอสคอร์บิกสูงสุดเท่ากับ 157.84 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม

ตารางที่ 4.5 ค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพกับคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร (น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกมานูก้า)

	Total phenolic	Total flavonoid	DPPH	FRAP	AEAC	Ascorbic acid	ABS_{450}
Total phenolic	1.000	0.995**	-0.996	0.902	0.97*	0.844	0.870
Total flavonoid	0.995**	1.000	-0.947	0.941	0.959*	0.880	0.904
DPPH	-0.996	-0.947	1.000	-0.830	-0.997	-0.842	-0.720
FRAP	0.902	0.941	-0.830	1.000	0.867	0.955*	0.920
AEAC	0.970*	0.959*	-0.997	0.867	1.000	0.881	0.747
Ascorbic acid	0.844	0.880	-0.842	0.955*	0.881	1.000	0.764
ABS_{450}	0.870	0.904	-0.720	0.920	0.747	0.764	1.000
****มีนัยสำคัญทางสถิติ <0.01 *มีนัยสำคัญทางสถิติ <0.05**							

จากตารางที่ 4.5 พบว่า ABS_{450} มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันในระดับสูงกับ total phenolic, total flavonoid, FRAP, AEAC, ascorbic acid ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าความเข้มสีของน้ำผึ้ง (ABS_{450}) มีส่วนสำคัญต่อการออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้ง โดยผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองในน้ำผึ้งจากประเทศสโลวาเกีย (Bertoncelj et al., 2007) ABS_{450} มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันในระดับสูงกับ total phenolic, total flavonoid, FRAP, AEAC, ascorbic acid นอกจากนี้ยังพบว่า total phenolic, total flavonoid, ascorbic acid มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันในระดับสูงกับ FRAP, AEAC ซึ่งเป็นการบ่งบอกว่าสารประกอบฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ กรดแอสคอร์บิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่สำคัญในน้ำผึ้ง ในทางตรงกันข้ามพบว่า DPPH มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางตรงกันข้ามในระดับสูงกับ total phenolic, total flavonoid, FRAP, AEAC, ascorbic acid, ABS_{450} เนื่องจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH assay มีการแสดงผลเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% น้ำผึ้งที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดจะมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด จึงส่งผลให้ค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ของ DPPH มีค่าติดลบ

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ
(Conclusions)

5.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบสารเฉพาะตัวในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรด้วยเทคนิคแกสโครมาโทรกราฟฟ/แมสสเปคโทรเมทรี (Gas Chromatograghy/ Mass Spectrometry; GC-MS)

การวิเคราะห์น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว และน้ำผึ้งดอกพิกุล ด้วยเทคนิค GC-MS พบสารองค์ประกอบ 38 ชนิด โดยน้ำผึ้งแต่ละชนิดจะมีสารองค์ประกอบแตกต่างกัน น้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีสารองค์ประกอบเฉพาะ 12 ชนิด ประกอบด้วยสารประกอบในกลุ่มเอสเทอร์ (ester) แอลดีไฮด์ (aldehyde) คีโตน (ketone) แอลกอออล์ (alcohol) อนุพันธ์ของฟิวแรน (furan) อนุพันธ์ของไพโรล (pyrrole) อนุพันธ์ของเบนซิน (benzene) น้ำผึ้งดอกเสี้ยวมีสารองค์ประกอบเฉพาะ 2 ชนิด ประกอบด้วยสารประกอบในกลุ่มแอลดีไฮด์ (aldehyde) และน้ำผึ้งดอกพิกุลมีสารองค์ประกอบเฉพาะ 8 ชนิด ประกอบด้วยสารประกอบในกลุ่มเอสเทอร์ (ester) แอลดีไฮด์ (aldehyde) แอลกอออล์ (alcohol) อนุพันธ์ของแนพทาลีน (naphthalene) ในการวิเคราะห์ส่วนประกอบหลักเพื่อทำการจัดกลุ่มน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร เมื่อทำการวิเคราะห์ส่วนประกอบหลักที่ 1 (PC1) และส่วนประกอบหลักที่ 2 (PC2) ของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรจำนวน 9 ตัวอย่าง ด้วยวิธี Principal component analysis (PCA) พบว่าสามารถจัดกลุ่มน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรจำนวน 9 ตัวอย่าง ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ น้ำผึ้งดอกดาวกระจาย น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล ซึ่งการจัดกลุ่มนี้เป็นการยืนยันการจัดกลุ่มน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรตามแหล่งพืชอาหารของผึ้ง อันได้แก่ ดอกดาวกระจาย ดอกเสี้ยว ดอกพิกุล

5.2 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำผึ้ง

5.2.1 ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 3.22-3.84 ซึ่งมีสมบัติเป็นกรด โดยน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีค่าความเป็นกรดสูงที่สุด (pH 3.22) และน้ำผึ้งดอกมานูก้ามีค่าความเป็นกรดต่ำที่สุด (pH 3.84) น้ำผึ้งที่มีความเป็นกรดสูงเป็นน้ำผึ้งที่มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (antibacterial agents) ที่ดี

5.2.2 ปริมาณความชื้นของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 18.8-32.5% โดยน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีความชื้นสูงถึง 29.0, 32.5 และ 27.0% ตามลำดับ โดยตามมาตรฐานสากลน้ำผึ้งควรจะมีปริมาณความชื้น ≤20% (Alimentarius, 2001) ในขณะที่น้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีปริมาณความชื้น 18.8% อาจกล่าวได้ว่าปริมาณความชื้นในน้ำผึ้งที่แตกต่างกันได้รับอิทธิพลมาจากแหล่งพืชอาหาร (botanical source) สภาพพื้นที่ (geographical conditions) สภาพอากาศ (climatic conditions) และฤดูกาล (season) ที่แตกต่างกัน รวมถึงสายพันธุ์ของผึ้งที่แตกต่างกันอาจมีอิทธิพลต่อปริมาณความชื้นในน้ำผึ้งอีกด้วย

5.2.3 ปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 67.5-81.2% โดยน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีปริมาณของแข็งทั้งหมด 71.0, 67.5 และ 73% ตามลำดับ ส่วนน้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 81.2%

5.2.4 ค่าการนำไฟฟ้าของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 0.484-0.796 mS/cm โดยน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีค่าการนำไฟฟ้า 0.550, 0.484 และ 0.796 mS/cm ตามลำดับ โดยตามมาตรฐานสากลน้ำผึ้งควรจะมีค่าการนำไฟฟ้า < 0.8 mS/cm (Alimentarius, 2001) ในขณะที่น้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีค่าการนำไฟฟ้า 0.864 mS/cm

ค่าการนำไฟฟ้าโดยปกติจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณแร่ธาตุที่พบในน้ำผึ้ง ถ้าในน้ำผึ้งมีปริมาณแร่ธาตุสูงจะทำให้ค่าการนำไฟฟ้าที่วัดได้มีค่าสูงขึ้นด้วย

5.2.5 ปริมาณเถ้าของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 0.28-1.34% โดยน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีปริมาณเถ้า 0.32, 0.28 และ 1.17% ตามลำดับ น้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีปริมาณเถ้า 1.34% โดยปริมาณเถ้าของน้ำผึ้งเป็นตัวบ่งชี้ปริมาณแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในน้ำผึ้ง

5.2.6 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 68.5-73.5% โดยน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 71.9, 68.5 และ 73.5% ตามลำดับ น้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 80.6% โดยตามมาตรฐานสากลน้ำผึ้งควรจะมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ≥60% (Alimentarius, 2001) ทั้งนี้น้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิดอยู่ในเกณฑ์ตามมาตรฐานสากล

5.2.7 ความเข้มสีของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 382-791 mAU โดยน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีความเข้มสี 382, 412 และ 791 mAU น้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีความเข้มสี 734 mAU น้ำผึ้งที่มีความเข้มของสีมากจึงมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าน้ำผึ้งที่มีความเข้มสีน้อย เนื่องจากความเข้มสีของน้ำผึ้ง (ABS_{450}) ถูกนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้รงควัตถุที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในน้ำผึ้ง

5.2.8 ค่าสีของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรที่ทำการศึกษาอยู่ในช่วง 46.35-161.11 mm Pfund โดยน้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกกระจายที่เก็บในพื้นที่จังหวัดราชบุรีมีค่าสี 46.35, 112.83 และ 161.11 mm Pfund ตามลำดับ น้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีค่าสีอยู่ที่ 145.42 mm Pfund น้ำผึ้งที่มีค่า Pfund สูงจะมีความเข้มสีมาก ส่วนน้ำผึ้งที่มีค่า Pfund ต่ำ จะมีความเข้มสีน้อย โดยค่า Pfund ที่สูงและความเข้มสีที่มากเป็นตัวบ่งชี้ว่าน้ำผึ้งนั้นมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระมากเนื่องจากน้ำผึ้งนั้นมีองค์ประกอบของสารประกอบฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ในปริมาณมาก และอาจเป็นไปได้ว่าสีของน้ำผึ้งขึ้นกับชนิดของแหล่งพืชอาหารของผึ้ง

5.3 การศึกษาคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร

5.3.1 ปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดในน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีค่าอยู่ในช่วง 123.78-929.47 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม โดยน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดสูงที่สุด (929.47 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม) และน้ำผึ้งดอกพิกุลมีปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดต่ำที่สุด (123.78 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม) ส่วนน้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์มีปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด 405.5 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม เมื่อเทียบปริมาณฟีโนลิกทั้งหมดของน้ำผึ้งดอกดาวกระจายกับน้ำผึ้งจากประเทศอื่นๆและน้ำผึ้งดอกมานูก้าจากประเทศนิวซีแลนด์พบว่าน้ำผึ้งดอกดาวกระจายเป็นน้ำผึ้งอีกหนึ่งชนิดที่จัดว่ามีคุณภาพสูงเนื่องจากมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูง

5.3.2 น้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 46.75-128.48 มิลลิกรัมของคาทิชิน/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม โดยน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด (128.48 มิลลิกรัมของคาทิชิน/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม) และน้ำผึ้งดอกพิกุลมีปริมาณฟลาโวนอยด์ต่ำที่สุด (46.75 มิลลิกรัมของคาทิชิน/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม) ทั้งนี้ปริมาณฟีโนลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่แตกต่างกันในน้ำผึ้งแต่ละชนิดอาจเกิดจากความแตกต่างของแหล่งพืชอาหารของผึ้ง

5.3.3 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรโดยวิธี DPPH assay พบว่าน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) เท่ากับ 30.62 มิลลิกรัม/น้ำผึ้ง 1 มิลลิลิตร ดังภาพที่ 4.7 ในขณะที่น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกมานูก้า (นิวซีแลนด์) มีค่าความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) เท่ากับ 78.13, 88.26 และ 77.38 มิลลิกรัม/น้ำผึ้ง 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ

5.3.4 การศึกษาความสามารถในการให้อิเล็กตรอนเมื่อทดสอบด้วยวิธี FRAP assay ของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร พบว่าน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเนื่องจากน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีค่า FRAP สูงที่สุด เท่ากับ 445.98 μmol $Fe^{2+/}$น้ำผึ้ง 100 กรัม ดังภาพที่ 4.8 ในขณะที่น้ำผึ้งดอกเสี้ยว น้ำผึ้งดอกพิกุล น้ำผึ้งดอกมานูก้า (นิวซีแลนด์) มีค่า FRAP เท่ากับ 314.88, 248.74 และ 394.18 μmol Fe^{2+}/น้ำผึ้ง 100 กรัม ตามลำดับ

5.3.5 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรโดยวิธี AEAC assay อยู่ในช่วง 88.05-646.32 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม โดยน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ 646.32 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม และปริมาณกรดแอสคอร์บิกในของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรอยู่ในช่วง 62.41-157.84 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม น้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีปริมาณกรดแอสคอร์บิกสูงสุดเท่ากับ 157.84 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิก/น้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม

5.4 การทดสอบสหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson correlation) ของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพกับคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพร

การทดสอบพบว่า total phenolic, total flavonoid, FRAP, AEAC, ascorbic acid และ ABS_{450} มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันในระดับสูง ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า total phenolic, total flavonoid, ascorbic acid, ABS_{450} มีส่วนสำคัญต่อการออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของ ในทางตรงกันข้ามพบว่า DPPH มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางตรงกันข้ามในระดับสูงกับ total phenolic, total flavonoid, FRAP, AEAC, ascorbic acid, ABS_{450} เนื่องจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH assay มีการแสดงผลเป็นค่า IC_{50} ซึ่งคือความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% น้ำผึ้งที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดจะมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด จึงส่งผลให้ค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ของ DPPH มีค่าติดลบ

กล่าวโดยสรุป ผลการวิจัยพบว่าน้ำผึ้งดอกไม้สมุนไพรจากดอกดาวกระจายมีปริมาณฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ กรดแอสคอร์บิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH FRAP AEAC) สูงกว่าน้ำผึ้งจากดอกเสี้ยว และดอกพิกุล ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติดังกล่าวของน้ำผึ้งดอกดาวกระจายกับน้ำผึ้งมานูก้า (นิวซีแลนด์) พบว่าน้ำผึ้งดอกดาวกระจายมีปริมาณฟีโนลิก ฟลาโวนอยด์ กรดแอสคอร์บิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH FRAP AEAC) สูงกว่าน้ำผึ้งมานูก้า (นิวซีแลนด์) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน้ำผึ้งดอกดาวกระจายของไทยมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระไม่แพ้น้ำผึ้งดอกมานูก้าที่มีชื่อเสียงจากต่างประเทศ

เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย
(References)

ก่องกานดา ชยามฤต และ ลีนา ผู้พัฒนพงศ์. 2544. สมุนไพรไทย ตอนที่ 6. กรุงเทพมหานคร. บริษัทประชาชน จำกัด.

โครงการสารานุกรมไทยสาหรับเยาวชน โดย พระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว. 2551. สารนุกรมสาหรับเยาวชนเล่มที่ 21. กรุงเทพมหานคร

มนตรา ศรีษะแย้ม. 2553. สมบัติต้านเชื้อจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชันของน้ำผึ้งจากผึ้งพันธุ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, หน้า 8-9.

พมมะวง ชาลีกาบแก้ว. 2551. การศึกษาฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดเสี้ยวแดงในการป้องกันการทำงานผิดปกติของไตและหลอดเลือดในหนูเบาหวาน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. อุบลราชธานี. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

อรวรรณ ดวงภักดี, สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ, จริยา เล็กประยูร, สุรีรัตน์ เดี่ยววาณิชย์ และ จันทร์เพ็ญ จันทร์เจ้า. 2546. ความหลากหลายทางชีวภาพและการกระจายของผึ้งมิ้ม ผึ้งมิ้มเล็ก ผึ้งหลวง ผึ้งโพรง และผึ้งพันธุ์ในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์ 57 (6): 382-389.

อ้อมใจ แต้เจริญวิริยะกุล, เมที บัวสาย, อิทธิชัย รัตนาตรานุรักษ์, เพียงหทัย ศรียอด และ สุภารัตน์ จันทร์เหลือง. 2004. ฤทธิ์ต้านแซนทีนออกซิเดสของพืชสมุนไพร. ไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ ปี 6 ฉบับ 1: หน้า 1-6.

Ajlounia, S. and Sujirapinyokul, P. 2010. Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. Food Chemistry 119: 1000–1005.

Alimentarius, C. 2001. Revised codex standard for honey. Codex stan, 12: 1982.

Al-Mamarya, M., Al-Meerib, A. and Al-Haborib, M. 2002. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. Nutrition Research 22: 1041-1047.

Alnaimat, S., Wainwright, M. and Al'Abri, W. 2012. Antibacterial potential of honey from different origins: a comparison with Manuka honey. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science 1: 1328-1338.

Amin, F.A.Z., Sabri, S., Mohammad, S.M., Ismail, M., Chan, K.W., Ismail, N., Norhaizan, M.E. and Zawawi, N. 2018. Therapeutic properties of stingless bee honey in comparison with european bee honey. Advances in Pharmacological Sciences 12: 1–12.

Anklam, E. 1998. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. Food Chemistry 63: 549–562.

Anklam, E. 2002. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. Food Chemistry 63: 549-562.

Azeredo, L.C., Azeredo, M.A.A., De Souza, S.R. and Dutra, V.M.L. 2003. Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. Food Chemistry 80: 249-254.

Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods Enzymology 299: 15-27.

Bertoncelj, J., Dobersek, U., Jamnik, M. and Golob, T. 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. Food Chemistry 105: 822–828.

Blasa, M., Candiracci, M., Accorsi, A., Piacentini, P.M., Albertini, M.C. and Piatti, E. 2005. Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants. Food Chemistry 97: 217-222.

Bogdanov, S. and Martin, P. 2002. Honey Authenticity: A Review. Swiss Bee Research Centre: 1-20.

Christy, E.M., Anna, M.C., and Roland, N.N. 2011. An overview of honey: Therapeutic properties and contribution in nutrition and human health African. Journal of Microbiology Research 5(8): 844-852.

Boonyaprapatsara, N. 2000. Thai Traditional Herbal Medicine Plant. vols. 1 and 4. Bangkok, Thailand: Prachachon Publ.

Crane, E. 1990. Bees and Beekeeping: Science, Practice and World Resources, Heinemann Newnes, Oxford.

Dutton, R. and Simpson, J. 1977. Producing honey with *Apis florea* in Oman. Bee World 53: 71-76.

Ferreres, F., Toma´s-Barbera´n, F.A., Soler, C., Garcı´a-Viguera, C., Ortiz, A. and Toma´s-Lorente, F. 1994. A simple extractive technique for honey flavonoid HPLC analysis. Apidologie 25: 21-30.

Ferreira, I.C.F.R., Aires, E., Barreira, J.C.M. and Estevinho, L.M. 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. Food Chemistry 114: 1438-1443.

Finola, M.S., Lasagno, M.C. and Marioli, J.M. 2000. Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. Food Chemistry 100: 1649–1653.

Free, J.B. 1981. Biology and behaviour of the honeybee *Apis florea*, and possibilities for beekeeping. Bee World 62: 46-59.

Gidamis, A., Chove, B., Shayo, N., Nnko, S. and Bangu, N. 2004. Quality evaluation of honey harvested from selected areas in Tanzania with special emphasis onhydroxymethylfurfural (HMF) levels. Plant Food for Human Nutrition 4: 129–134.

Gunter, F.W., Anita, M.C. and Virginia, P.W. 2001 Antioxidant enzymes in the honey bee, *Apis mellifera*. Apidologie 33: 3-14.

Islam, A., Khalil, I., Islam, N., Moniruzzaman, M., Mottalib, A., Sulaiman, S.A. and Gan, S.H. 2012. Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year. BMC Complementary and Alternative Medicine 12: 177.

Islam, M.R., Pervin, T., Hossain, H., Saha, B. and Hossain, S.J. 2017. Physicochemical and antioxidant properties of honeys from the Sundarbans mangrove forest of Bangladesh. Preventive Nutrition and Food Science 22(4): 335-344.

Joshi, S.R., Pechhacker, H., William, A. and Ohe, W.V.D. 2000. Physico-chemicalcharacteristics of *Apis dorsata*, *A. cerana* and *A. mellifera* honey from Chitwandistrict, central Nepal. Apidologie 31: 367–375.

Kačániová, M., Hleba, L., Džugan, M., Pasternakiewicz, A., Kňazovická, V., Pavelková, A., Felsöciová, S., Petrová, J., Rovná, K., Kluz M. and Grabek-Lejko, D. 2012. Microbiological properties and antimicrobial effect of Slovakian and Polish honey having regard to the water activity and water content. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences 2(1): 272-281.

Khalil, I., Moniruzzaman, M., Boukraâ, L., Benhanifia, M., Islam, A., Islam, N., Sulaiman, S.A. and Gan, S.H. 2012. Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. Molecules 17(9): 11199-11215.

Kolaylı, S., Aliyazıcıoğlu, R., Ulusoy, E. and Karaoğlu, S. 2008. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Selected Turkish Honeys. Hacettepe Journal of Biology and Chemistry 36 (2): 163-172.

Limpawattana, M. and Shewfelt, R. 2010. Flavor Lexicon for Descriptive Profiling of Different Rice Types. Journal of Food Science 75: 199-205.

Ling, Z.Q., Xie, B.J., Yang, E.L.2005. Isolation, characterization, and determination of antioxidative activity of oligomeric procyanidins from the seedpod of *Nelumbo nucifera* Gaertn. Journal of Agriculture and Food Chemistry 53(7): 2441-2445.

Lopez, S.N., Sierra, M.G., Gattuso, S.J., Furlan, R.L. and Zacchino, S.A. 2006. An unusual homoisoflavanone and a structurally-related dihydrochalcone from *Polygonum ferrugineum* (Polygonaceae). Phytochemistry 67: 2152-2158.

Mahattanatawee, K., Ruiz Perez-Cacho, P., Davenport, T. and Rouseff, R. 2007. Comparison of three lychee cultivar odor profiles using GC-O and GC-sulfur. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55: 1939--1944.

Martos, I, Ferreres F. and Tomás Barberán. 2000. Identification of flavonoid markers for the botanical origin of Eucalyptus Honey. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48: 1498-1502.

Meda, A., Lamien, C., Romito, M., Millago, J. and Nacoulma, O. 2005. Determination of total phenolic, flavonoid and proline content in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food Chemistry 91: 571-577.

Molan, P.C. 1992. The antibacterial activity of honey 1. The nature of the antibacterial activity. Bee World 73: 5–28.

Molan, P.C. 1997. Honey as an antimicrobial agent. In A. Mizrahi, Y. Lensky (eds): Bee Products: Properties, Applications and Apitherapy. New York: Plenum Press, 27–37.

Moniruzzaman, M., Khalil, M.I., Sulaiman, S.A. and Gan, S.H. 2013. Physicochemical and antioxidant properties of Malaysian honeys produced by *Apis cerana*, *Apis dorsata* and *Apis mellifera*. BMC Complementary and Alternative Medicine 13: 43.

Muhammad S., Saghir A.S., Mirza H., Abdul R. and Sadat S.K. 2013 A study on the determination of physicochemical properties of honey from different valleys of Gilgit-Baltistan. International Journal of Agricultural Science Research 2(2): 49-52.

Nakamura, J., Wongsiri, S. and Sasaki, M. 1991. *Apis cerana* on Samui islands and its bee keeping. Honeybee Science 12: 27-30.

National Honey Board: Honey and Bees. 2003.

Oldroyd, B.P. and Wongsiri, S. 2006. Asian Honeybees: Biology, Conservation and Human Interaction. Harvard University Press: Cambridge.

Ouchemoukh, S., Louaileche, H. and Schweitzer, P. 2007. Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. Food Control 18(1): 52–58.

Phiancharoen, M., Wongsiri, S. and Hepburn, H.R. 2011. Queen production and instrumental insemination of *Apis florea* queen. Apidologie 42: 307-311.

Peryam, D.R. and Pigrim, F.J. 1957. Hedonic scale method of measuring food preferences. Food Technology. 11(9): 9--14.

Rinderer, T., Wongsiri, S., Kuang, B., Liu, J., Oldroyd, B.P., Sylvester, H.A. and Guzman, De L. 1996. Comparative nest architecture of the dwarf honey bees. Journal of Apicultural Research 35: 19-26.

Saxena, S., Gautam, S. and Sharma, A. 2010. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. Food Chemistry 118(2): 391–397.

Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology Viticulture 16: 144-158.

Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymology 299: 152-178.

Tomas-Barberan, F.A., Martos, I. Ferreres F., Radovic, B.S. and Anklam, E. 2001. HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. Journal of Science of Food and Agriculture 81: 485--496.

Vachirasup, T. 1995. Senna plant in Thailand (1st ed.). Mahidol University, Bangkok, Thailand: Faculty of Pharmacy.

Weston, R. 2000. The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. Food Chemistry 71: 235-239.

White J.W., Subers M.H. and Schepartz A.J. 1963. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system. Biochim. Biophys. Acta. 73: 57–70.

Whitcombe, R.P. 1984. The biology of *Apis* spp. In Oman with special reference to *Apis florea* Fab. University of Durham: Ph.D. Thesis. 621 pp.

Wijekoon, W.M.C.J. and Punchihewa, R.W.K. 2008. Preliminary study on sustainable honey harvesting from natural dwarf honeybee (*Apis florea*) colonies in semi arid Regions of Sri Lanka. Thirteenth International Forestry and Environment Symposium, Kalutara, Sri Lanka.

Williams, A.A. and Langron, S.P. 1984. The use of free-choice profiling for the evaluation of commercial ports. Journal of Science, Food and Agriculture 35: 204-214.

Wright, G.A., Baker, D.D., Palmer, M.J., Stabler, D., Mustard, J.A., Power, E.F., Borland, A.M. and Stevenson, P.C. 2013 Caffeine in floral nectar enhances a pollinator's memory of reward. Science 339.

Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry 64: 555–559.