รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้งชันโรงในแหล่งต่างๆและการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์

(Investigation of physical and chemical characteristic of stingless bees honey in different locations and product development)

ชื่อหัวหน้าโครงการผู้รับทุน / ผู้วิจัย

1. ดร. ศศิภาวรรณ มาชะนา หัวหน้าโครงการวิจัย
2. ดร. กาญจนา ธรรมนู ผู้ร่วมวิจัย
3. ผศ.ดร. ยศนันท์ วีระพล ผู้ร่วมวิจัย
4. ดร. สุมิตร คุณเจตน์ ผู้ร่วมวิจัย
5. ผศ.ดร. บุญดิศย์ วงศ์ศักดิ์ ผู้ร่วมวิจัย
6. ผศ.ดร. ชำนาญ ภัตรพานิช ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

โครงการวิจัยสนองพระราชดำริโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.)

ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยบูรพา งบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 2560A10803006

สัญญาเลขที่ 171/2560

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้งชันโรงในแหล่งต่างๆและการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์

(Investigation of physical and chemical characteristic of stingless bees honey in different locations and product development)

ชื่อหัวหน้าโครงการผู้รับทุน / ผู้วิจัย ส่วนงาน

1. ดร. ศศิภาวรรณ มาชะนา หัวหน้าโครงการวิจัย
2. ดร. กาญจนา ธรรมนู ผู้ร่วมวิจัย
3. ผศ.ดร. ยศนันท์ วีระพล ผู้ร่วมวิจัย
4. ดร. สุมิตร คุณเจตน์ ผู้ร่วมวิจัย
5. ผศ.ดร. บุญดิศย์ วงศ์ศักดิ์ ผู้ร่วมวิจัย
6. ผศ.ดร. ชำนาญ ภัตรพานิช ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

หน่วยงานที่รับผิดชอบโครงการ

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง

จังหวัดชลบุรี 20131 โทรศัพท์ 0-3810-2610 / โทรสาร 038-102610

หน่วยงานสนับสนุน

1.โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สวนจิตรลดา พระราชวังดุสิต กรุงเทพมหานคร 10303

2 คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ สาขาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

4 สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์กรจำกัดมหาชน) จังหวัดนครราชสีมา

ผู้รับผิดชอบโครงการวิจัย

1. ดร. ศศิภาวรรณ มาชะนา หัวหน้าโครงการวิจัย

2. ดร. กาญจนา ธรรมนู ผู้ร่วมวิจัย

3. ผศ.ดร. ยศนันท์ วีระพล ผู้ร่วมวิจัย

4. ดร. สุมิตร คุณเจตน์ ผู้ร่วมวิจัย

5. ผศ.ดร. บุญดิศย์ วงศ์ศักดิ์ ผู้ร่วมวิจัย

6. ผศ.ดร. ชำนาญ ภัตรพานิช ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ผู้วิจัยขอพระคุณทุนสนับสนุนจาก โครงการวิจัยสนองพระราชดำริ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ร่วมถึงบุคคลและกลุ่มบุคคลต่างๆ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำและสนับสนุนช่วยเหลือทั้งทางด้านวิชาการและการดำเนินงานวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และหน่วยงานต่างๆที่ได้สนับสนุนการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้เป็นอย่างดี ได้แก่ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา, คณะวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ สาขาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี, สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน) ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเข้าใช้บริการ FTIR spectroscopy and FT-RAMAN spectroscopy ที่สนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๐ มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา ๑๗๑/ ๒๕๖๐

คณะผู้ทำวิจัย

สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
สารบัญเรื่อง	ข
สารบัญตาราง	ค
สารบัญภาพ	ง
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย	ฉ
บทคัดย่อ (ไทย/ อังกฤษ)	ช
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1-2
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
ขอบเขตของการวิจัย	3
ทฤษฎี สมมติฐานและ / หรือกรอบแนวความคิดของการวิจัย	3-5
การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (Information) ที่เกี่ยวข้อง	6-15
บทที่ 2 วิธีการวิจัย	16
การเก็บน้ำผึ้งชันโรงที่เลี้ยงในแหล่งต่างๆ	16
การวิเคราะห์หาปริมาณสารไฮดรอกซีเมททิลเฟอร์ฟิวรัล	17
การวิเคราะห์หาองค์ประกอบ มาตรฐานของน้ำผึ้ง	18
การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกในน้ำผึ้ง	18
การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในน้ำผึ้ง	18
การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งชันโรง	19
การวิเคราะห์น้ำผึ้งชันโรงด้วยเทคนิค FT-IR และ FTIR RAMAN spectrometer	20
การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบ Total phenolic ในน้ำผึ้งชันโรงด้วย	20
เทคนิค FT-IR , FT-RAMAN spectroscopy และ Folin-Ciocalteu	
การศึกษาพัฒนาผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้งผสมชันจากชันโรง	20
บทที่ 3 ผลการวิจัย	23
บทที่ 4 สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย	46
บทที่ 5 สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัย	53

สารบัญตาราง (List of tables)

ตาราง 1 ตำรับยาเม็ดนิ่ม 21
ตารางที่ 2 ปริมาณน้ำผึ้งชันโรงที่ทำการเก็บในแต่ละแหล่ง 26
ตารางที่ 3 ปริมาณสาร HMF ที่พบในน้ำผึ้งจากแหล่งต่างๆ 29
ตารางที่ 4 ปริมาณน้ำตาลในสารละลายน้ำผึ้งจากแหล่งต่างๆ 32
ตารางที่ 5 ปริมาณสารประกอบฟลีนอลลิกและฟลาโวนอยด์ในน้ำผึ้งชันนโรงแหล่งต่างๆ 39
ตารางที่ 6 การยับยั้งอนุมูลอิสระของสารละลายน้ำผึ้งที่ความเข้มข้น 1000 mg 42
ตารางที่ 7 ลักษณะทางกายภาพของยาอมเม็ดนิ่ม 43
ตารางที่ 8 สารประกอบฟีนอลลิกและสรประกอบฟลาโวนอยด์ในผลิตภัณฑ์ลูกอมเม็ดนิ่ม 44
ตารางที่ 9 ฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ลูกอมเม็ดนิ่ม 45

สารบัญภาพ (List of illustrations)

รูปที่ 1กรอบแนวความคิดของการวิจัย 4

รูปที่ 2. แสดงมูลค่าการนำเข้าและส่งออกน้ำผึ้งในช่วงปีพ.ศ.2544-2554 7

รูปที่ 3 การวางกล่องเลี้ยงผึ้งชันโรงที่บริเวณนาข้าวระบบปิด 17

รูปที่ 4 การเก็บตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรงในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ 2561 ในสวนผลไม้ อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี 23

รูปที่ 5 การเลี้ยงชันโรงในแปลงนาข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในแปลงนาข้าวสาขาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี 24

รูปที่ 6 การเลี้ยงชันโรงร่วมกับการปลูกข้าวข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในโรงเรือนแบบปิด ในแปลงทดลองสาขาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี 25

รูปที่ 7 โรงเลี้ยงผึ้งระบบปิด ณ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดจันทบุรี 26

รูปที่ 8 ลักษณะน้ำผึ้งชันโรงที่เก็บได้จากแหล่งต่างๆ ทั้ง 5 แหล่ง 26

รูปที่ 9 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน Hydroxymethylfurfural; HMF และกราฟสารละลายมาตรฐาน 28

รูปที่ 10 โครมาโทแกรมการวิเคราะห์หาปริมามาณ HMF ของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ 28

รูปที่ 11 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส ซูโครส และน้ำตาลมอลโทส และกราฟของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างๆ 30

รูปที่ 12 โครมาโตแกรมน้ำตาลของสารละลายน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ ด้วยวิธี HPLC 31

รูปที่ 13 IR spectrum และ 2nd derivative ของน้ำผึ้งชันโรงที่เก็บจากป่าชายเลน (สีน้ำเงิน) สวนผลไม้ (สีฟ้า) สวนสมุนไพร (สีเขียว) นาข้าวเปิด (สีแดง) และ นาข้าวปิด (สีชมพู) 33

รูปที่ 14 Principle component analysis (PCA) ของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ และ loading plot. 34

รูปที่ 15 Integral area สเปคตรัมน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ ที่ช่วงความยาวคลื่น 1500-1200 (Deformation of CH2/C-C-H/H-C-O) และ 1200-950 (Sugar region) 35

รูปที่ 16 1st และ 2nd spectrum ของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ ด้วย RAMAN-spectroscopy 36

รูปที่ 17 ผลวิเคราะห์ PCA และ loading plot ของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ ด้วย RAMAN-spectroscopy 37

รูปที่ 18 Integral area สเปคตรัมน้ำผึ้งชันโรงด้วย FT-Raman จากทั้ง 5 แหล่งที่ช่วงความยาวคลื่น 1500-1200 (Deformation of CH2/C-C-H/H-C-O) และ 1200-950 (Sugar region) 38

ภาพที่ 19 กราฟสารละลายมาตรฐานฟลีนอลลิกและฟลาโวนอยด์ 39

รูปที่ 20 ผลการทำนายสารประกอบฟลีนอลลิกด้วยเทคนิค FTIR spectroscopy กับค่าอ้างอิงโดยวิธี Follin Ciocalteu 40

รูปที่ 21 ผลการทำนายสารประกอบฟลีนอลลิกด้วยเทคนิค FT RAMAN spectroscopy กับค่าอ้างอิงโดยวิธี Follin Ciocalteu 41

สารบัญภาพ (List of illustrations) ต่อ

รูปที่ 22 กราฟการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารละลายมาตรฐานTrolox โดยวิธี DPPH และวิธี ABTS 42
รูปที่ 23 กราฟความแข็งของยาเม็ดนิ่ม 44

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย (List of Abbreviations)

ชื่อเต็ม	คำย่อ
Fourier Transform Infrared Spectroscopy	FT-IR
High Pressor Liquid Chromatography	HPLC
5-hydroxymethyl-2-furaldehyde	HMF
Near-Infrared	NIR
Mass spectrometry	MS
2, 2-diphenyl-1-picryhydrazyl	DPPH
2,2’-Azino-bis (3ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid	ABTS
Hydroxypropyl methyl cellulose	HPMC
Principle component analysis	PCA
Gallic Acid Equivalent	GAE
Quercetin Acid Equivalent	QAE
Root Mean Square Error	RMSECV
Relative Percent Difference	RPD

โครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้งชันโรงในแหล่งต่างๆและการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้งชันโรง (*Tetrtagona pagdeni*) ในแหล่งต่างๆ ทั้ง 5 แหล่ง ได้แก่ ป่าชายเลน สวนผลไม้ สวนสมุนไพร นาข้าวระบบเปิด และ นาข้าวระบบปิด โดยจากการศึกษาลักษณะของสีน้ำผึ้งที่เก็บจากแหล่งต่างๆ สังเกตสีที่ต่างกัน ซึ่งสีของน้ำผึ้งชันโรงที่เก็บจากนาข้าวระบบปิดมีสีเหลืองใสกว่าน้ำผึ้งจากแหล่งอื่นๆ ส่วนน้ำผึ้งชันโรงที่เก็บจากป่าชายเลนและสวนผลไม้มีสีน้ำตาลเข้ม โดยจากการศึกษาพบว่าสีน้ำตาลของน้ำผึ้งมีความสอดคล้องกับปริมาณสารฟีนอลลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้น ซึ่งการวิเคราะห์ปริมาณสาร 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2- เฟอร์ฟิวราลดีไฮด์ (HMF) และน้ำตาลในน้ำผึ้งชันโรงจากทั้ง 5 แหล่งด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง (HPLC) พบว่าสาร HMF ในน้ำผึ้งชันโรงจากทั้ง 5 แหล่งมีปริมาณไม่เกินมาตรฐานกำหนด ซึ่งอยู่ในช่วง 0.12-0.38 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และจากการวิเคราะห์พบว่ามีปริมาณน้ำตาลที่พบในน้ำผึ้งชันโรงจากทั้ง 5 แหล่งได้แก่ น้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และมอลโตส โดยจากการวิเคราะห์ไม่พบน้ำตาลซูโครสในน้ำผึ้งชันโรง นอกจากนี้ในการวิเคราะห์สเปกตรัมของน้ำผึ้งด้วยเทคนิค FTIR และ FT-RAM spectroscopy เพื่อแยกความแตกต่างของน้ำผึ้งชันโรงจากทั้ง 5 แหล่งด้วยการวิเคราะห์ PCA analysis พบว่าน้ำผึ้งชันโรงมีลายพิมพ์นิ้วมือที่แตกต่างกันในช่วง 1500-900 cm^{-1} ซึ่งสอดคล้องกับช่วงของน้ำตาล โดยน้ำผึ้งชันโรงมีควมแตกต่างกันตั้งแต่ PC 1 ที่ 58 % เมื่อวิเคราะห์ด้วย FTIR spectroscopy และที่ 52% เมื่อวิเคราะห์ด้วย FT-RAMAN spectroscopy ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าทั้งเทคนิค FTIR และ FT-RAM spectroscopy เป็นเทคนิคที่สามารถใช้แยกความแตกต่างของน้ำผึ้งชันโรงที่แตกต่างกันได้อย่างรวดเร็วและประหยัดขั้นตอนในการวิเคราะห์

ยิ่งไปกว่านี้การศึกษานี้ได้ทำการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ในน้ำผึ้งชันโรงจากทั้ง 5 แหล่ง ซึ่งพบว่าน้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลนมีปริมาณสารฟีนอลลิกและฟลาโวนอยด์มากที่สุดที่ 2.66 g GAE/100 g ของน้ำผึ้ง และ 0.99 g QAE/ 100 g ของน้ำผึ้ง ตามลำดับ โดยจากการศึกษาพบว่าปริมาณสารฟีนอลลิกและฟลาโวนอยด์ในน้ำผึ้งชันโรงสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยพบว่าน้ำผึ้งชันโรงที่ 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระที่ช่วง 75.88-87.53 % (ด้วยวิธี DPPH) และ 80.68 – 88.20% (ด้วยวิธี ABTS) โดยน้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดซึ่งสอดคล้องกับสีของน้ำผึ้ง ทั้งนี้ผู้วิจัยยังพบว่าเมื่อทำการพัฒนาตำรับลูกอมเม็ดนิ่มจากน้ำผึ้งชันโรงและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้น 500

mg/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าน้ำผึ้งชันโรงที่ 88.87-89.05% โดยวิธี DPPH และ ABTS ตามลำดับ ซึ่งฤทธิ์ที่เพิ่มขึ้นอาจเกิดอันรกิริยาที่เสริมฤทธิ์กันของสารที่ผสมในลูกอมเม็ดนิ่มกับน้ำผึ้งชันโรง

งานวิจัยนี้ยังศึกษาการประยุกต์ใช้เทคนิค FTIR and FT-RAMN spectroscopy ในการทำนายสารฟีนอลลิกในน้ำผึ้งชันโรง ซึ่งผลการศึกษาพบเทคนิค FTIR spectroscopy และวิธีทั่วไปที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิก (Follin Ciocaltue) มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ที่สูงถึง 98.75% ค่าความคลาดเคลื่อนในการทำนายเท่ากับ 0.0833% ค่าความผิดพลาดเฉลี่ยทั้งหมด 0.00159% และสัดส่วนระหว่างค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 8.94 ในขณะที่เทคนิค FT-RAMAN spectroscopy และวิธีทั่วไปมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ที่ 78.44% ค่าความคลาดเคลื่อนในการทำนายเท่ากับ 0.379% ค่าความผิดพลาดเฉลี่ยทั้งหมด 0.0432% และสัดส่วนระหว่างค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 2.1 ดังนั้นจากผลการวิเคราะห์นี้จึงสรุปได้ว่าวิธี FTIR spectroscopy สามารถใช้ในการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกในน้ำผึ้งชันโรงได้อย่างแม่นยำ ซึ่งการศึกษานี้เป็นรายงานครั้งแรกในการใช้เทคนิค FTIR และ FT-RAN spectroscopy ในการทำนายปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกในน้ำผึ้งชันโรง โดยโครงการวิจัยแสดงให้เห็นถึงการเพิ่มมูลค่าของน้ำผึ้งชันโรงของสารธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการพัฒนาผลิตภัณฑ์ลูกอมเม็ดนิ่มจากน้ำผึ้งชันโรง อีกทั้งเป็นการประยุกต์ใช้เทคนิค FTIR และ FT-RAMAN spectroscopy ในการวิเคราะห์หาข้อมูลเชิงคุณภาพและกึ่งปริมาณเพื่อใช้ในเชิงพานิชย์ของน้ำผึ้งชันโรงต่อไปได้

The research project: Investigation of physical and chemical characteristic of stingless bees honey in different locations and product development

Abstract

The study of physical and chemical characteristic of stingless bee honey (*Tetrtagona pagdeni*) in five different locations, e.g. mangrove forest, fruit garden, herbal garden, rice farm in open system and rice farm in closed system. The results of different color of stingless bee honey were observed. Stingless bee honey from rice farm in close system presented yellow clearer color than other locations, while the stingless bee honey from mangrove forest and fruit garden showed dark brown color which related to high total phenolic and antioxidant activity. The High pressor liquid chromatography (HPLC) was used to analyzed content of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (HMF) and sugars in stingless bee honey from five different locations. The results showed all stingless bee honey to have HMF not more than standard specification in range 0.12-0.38 mg/kg. Moreover, stingless bee honey composed of different sugar such as glucose, fructose and maltose, but all off stingless bee honey were not comprised of sucrose content. The FTIR and FT-RAMAN spectrum of stingless bee honey from five different locations were discriminated by the Principal Component Analysis (PCA) analysis. The result presented finger print in range 1500-900 cm^{-1} of sugar of stingless bee honey can discriminate five different locations with PC1 at 58% of FTIR spectroscopy and at 52% of FT-RAMAN spectroscopy technique. Therefore, both FTIR and FT-RAM spectroscopy technique can be used to discriminate different location of stingless bee honey with rapid result and save for analysis processes.

Furthermore, this study investigated all of stingless bee honey comprised of total phenolic and total flavonoid content, the stingless bee honey from mangrove forest exhibited the highest content as 2.66 g GAE/100 g honey and 0.99 g QAE/ 100 g of honey. Total phenolic and total flavonoid content were related to antioxidant activity at 1000 mg/ml of all stingless bee honey, represented percentage of inhibition of free radical at range of 75.88-87.53 % (DPPH assay) and 80.68 – 88.20% (ABTS assay). The stingless bee honey from mangrove forest present the highest antioxidant activity which related to the color of honey. Then the product of stingless

bee honey pastille at 500 mg/ml was performed and showed higher antioxidant activity than stingless bee honey at 88.87and 89.05 % by using DPPH and ABTS assay, respectively. The activity of stingless bee honey pastille was increasing might be from the synergistic effect of other ingredients and stingless bee honey.

This study investigated the application of FTIR and FT-RAMN spectroscopy technique to predict total phenolic content of stingless bee honey. The result showed high Correlation Coefficient between FTIR spectroscopy and general method Follin Ciocaltue at R^2 of 98.75% RMSECV 0.0833% bias 0.00159% and RPD 8.94%. Otherwise the correlation coefficient between FT-RAMAN spectroscopy and general method present R^2 at 78.44% RMSECV 0.379% bias 0.0432% and RPD 2.1%. Therefore, the study concludes that FTIR spectroscopy can be used to predict total phenolic content of stingless bee honey with accurate results. This is the first report to apply FTIR and FT-RAN spectroscopy to predict the total phenolic content in stingless bee honey. This project showed high value of stingless bee honey for natural antioxidant activity and product development of pastille from stingless bee honey. Moreover, applying the FTIR and FT-RAMAN spectroscopy to determine the data of qualitative and semi-quantitative has showed the commercial value of stingless bee honey.

Output/ Outcome

งานวิจัยนี้เป็นการใช้ทรัพยากรธรรมชาติ ได้แก่ น้ำผึ้งชันโรง ที่มีการเลี้ยงอยู่แล้วของวิสาหกิจชุมชน ในจังหวัดจันทบุรี โดยบูรณาการให้เกิดการทำงานร่วมกันของหลายภาคส่วนได้แก่ คณะเภสัชศาสตร์และคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตรจังหวัดจันทบุรี(ผึ้ง) และกลุ่มเกษตรกรคนจันท์ชันโรงในจังหวัดจันทบุรี ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจากโครงการนี้จะเกิดประโยชน์ใน 3 ส่วนดังนี้

1) ประโยชน์แก่ชุมชนและสังคม กลุ่มเกษตรกรสวนผลไม้ได้รับการถ่ายทอดความรู้ถึงคุณภาพและมาตรฐานทั้งทางกายภาพและทางเคมีของน้ำผึ้งชันโรงและสามารถแปรรูปน้ำผึ้งชันโรงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพเพื่อการเพิ่มมูลค่าในเชิงพาณิชย์

2) ประโยชน์ด้านวิชาการ ผลลัพธ์ที่ได้จากโครงการวิจัยเช่น ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำผึ้งชันโรงและ การประยุกต์ใช้เทคนิค FT-Raman spectroscopy และ FT-IR spectroscopy ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำผึ้งของแต่ละแหล่งอาหาร ซึ่งจะถูกใช้เป็นฐานข้อมูลในการพัฒนาแหล่งเพาะเลี้ยงชันโรง ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการใช้ในทางพื้นบ้านจะได้รับการพิสูจน์ยืนยันให้ชัดเจนยิ่งขึ้น โดยองค์ความรู้และเทคนิคทั้งหมดจะถูกถ่ายทอดให้กับนักวิจัยหรือผู้สนใจทั่วไป นำไปต่อยอดงานในด้านอื่นๆให้เกิดประโยชน์ รวมทั้งมีการนำผลงานที่ได้เผยแพร่ในงานสัมมนาทั้งในและต่างประเทศ ตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารระดับชาติและนานาชาติ

3) ประโยชน์แก่หน่วยงานต่างๆ หน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนที่สนใจเกี่ยวกับการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์พันธุกรรมพืชและสัตว์ สามารถนำผลที่ได้จาการศึกษา มาเป็นกรอบในการส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์ การกระจายความรู้สู่กลุ่มชุมชนในพื้นที่อื่นๆได้อย่างมีหลักเกณฑ์และมีแหล่งข้อมูลทางวิชาการที่อ้างอิงได้ เพื่อให้ชุมชนและท้องถิ่นมีจิตสำนึกในการอนุรักษ์ พัฒนาและใช้ประโยชน์ทรัพยากรของประเทศอย่างยั่งยืน

บทที่ 1

บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปริมาณการผลิตน้ำผึ้งในตลาดโลกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยเฉลี่ยมีปริมาณการผลิต 1.0-1.2 ล้านตันต่อปีในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา โดยความต้องการน้ำผึ้งเพิ่มมากขึ้นทั้งในตลาดเอเชียและแอฟริกา ประเทศผู้ส่งออกน้ำผึ้งที่สำคัญในตลาดโลกคือจีน อาร์เจนตินา และเม็กซิโก (กองบรรณาธิการวารสารผู้ส่งออก. 2548) อย่างไรก็ตาม ประเทศไทยถือว่าเป็นผู้เลี้ยงผึ้งอันดับต้น ๆ ในแถบเอเชีย โดยการส่งออกน้ำผึ้งมีมูลค่ามากถึง 373,478,033 บาท ในปี 2553 และ 535,349,118 บาท ในปี 2554 ตามลำดับ ส่วนมูลค่าการนำเข้าน้ำผึ้งของไทย พบว่า มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน โดยประเทศที่ไทยนำเข้าน้ำผึ้งมามากที่สุดจากประเทศจีน การนำเข้าน้ำผึ้งจากจีนมีแนวโน้มมากขึ้นทุกปี ในปี 2554 การนำเข้ามีมูลค่ามากถึง 187,199,147 บาท ซึ่งมีมูลค่าเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ.2550 มาประมาณ 22 เท่า เมื่อพิจารณามูลค่าการนำเข้าและส่งออกน้ำผึ้งของไทยตามภาพแสดงมูลค่าการนำเข้าและส่งออกน้ำผึ้งในช่วงปี พ.ศ. 2544-2554 จะเห็นได้ชัดเจนว่าในช่วง 10 ปีที่ผ่านมาไทยมีมูลค่าการส่งออกสูงกว่าการนำเข้า แม้ว่าในปัจจุบันมูลค่าการส่งออกของไทยจะน้อย แต่ไทยเป็นประเทศที่มีศักยภาพในการเลี้ยงผึ้ง เนื่องจากมีจุดแข็งทางด้านความหลากหลายของพืชหมุนเวียนในรอบปี และเกษตรกรมีพื้นฐานในการเลี้ยงผึ้งและผลิตผลิตภัณฑ์ผึ้งที่มีคุณภาพ ไทยจึงเป็นประเทศที่ถูกจับตามองว่าจะสามารถก้าวขึ้นเป็นประเทศผู้ผลิตน้ำผึ้งที่สำคัญในอนาคต (กองบรรณาธิการวารสารผู้ส่งออก. 2548)

น้ำผึ้งจัดเป็นอาหารธรรมชาติที่มนุษย์รู้จักมาตั้งแต่สมัยโบราณ อีกทั้งยังเป็นส่วนผสมในตำรับยาแผนโบราณ ได้แก่ ยาลูกกลอน และตำรับยาแผนโบราณอื่นๆ อีกหลายชนิด รวมทั้งเครื่องสำอาง และอาหารเสริมต่างๆ เป็นต้น ทั้งนี้สรรพคุณทางยาของน้ำผึ้งขึ้นอยู่กับแหล่งอาหารและดอกไม้ ฤดูกาล กระบวนการเก็บเกี่ยว และชนิดของผึ้ง (Hegazi et al., 2014) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาเบื้องต้นของคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ในการศึกษาของน้ำผึ้งชันโรงในจังหวัดจันทบุรี พบว่าค่าน้ำตาลรวม (total sugar) ของน้ำผึ้งชันโรงมีค่าสูงสุดในฤดูร้อน ฤดูหนาวและฤดูฝนตามลำดับ (Isaro et al., 2014) ผึ้งชนิดที่ให้น้ำผึ้งและเกสรผึ้งได้เป็นจำนวนมากคือผึ้งรวง (honey bee) และมีผึ้งอีกสองชนิดที่ให้น้ำผึ้งได้ ได้แก่ ผึ้งชันโรง และผึ้งหึ่ง (สมนึก บุญเกิด และ ธนานิธ เสือวรรณศรี. 2544 : 11) ผึ้งชันโรง (stingless bees) เป็นผึ้งชนิดหนึ่งที่ไม่มีเหล็กใน มีพฤติกรรมการเก็บยางไม้ในปริมาณมากโดยเก็บยางไม้ผสมกับไขผึ้งที่เรียกว่า “พรอพอลิส” (propolis) เป็นโครงสร้างหลักของรัง ผึ้งชันโรงเป็นหนึ่งในชนิดผึ้งที่ให้น้ำผึ้งและเกสรได้ โดยให้น้ำผึ้งในปริมาณที่น้อยกว่าผึ้งรวง แต่น้ำผึ้งชันโรงหายากและมีราคาแพงกว่าน้ำผึ้งธรรมดาทั่วไป ทั้งนี้เพราะเชื่อว่ามีคุณค่าทางโภชนาการและทางยาสูงกว่าน้ำผึ้งชนิดอื่นๆ (สมนึก บุญเกิด และ ธนานิธ เสือวรรณศรี. 2544: 11-12) ในประเทศไทยมีการศึกษาการเปรียบเทียบองค์ประกอบของน้ำผึ้งชันโรงและจากผึ้งพันธ์ (*Apis*

mellifera L.) พบว่า น้ำผึ้งชันโรงมีปริมาณความชื้นสัดส่วนกลูโคสต่อฟรุกโตส และปริมาณกรดอะมิโน 15 ชนิดสูงกว่าน้ำผึ้งจากผึ้งพันธุ์ (อัญชลี สวาสธรรมและคณะ, 2552) ด้วยมูลค่าที่สูงของน้ำผึ้งทำให้มีโอกาสถูกปลอมปน การศึกษาหนึ่งของ Souza และคณะ (2006) ได้ทบทวนงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้งชันโรงตั้งแต่ปีค.ศ. 1964 เป็นต้นมา โดยมุ่งหวังให้ได้ข้อมูลพื้นฐานของน้ำผึ้งชันโรงและเกิดแนวทางในการควบคุมคุณภาพของน้ำผึ้งชันโรง อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับน้ำผึ้งชันโรงส่วนใหญ่แล้วจะเป็นงานวิจัยในต่างประเทศ ซึ่งศึกษาน้ำผึ้งชันโรงที่ต่างสายพันธุ์กับที่มีในประเทศไทย งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับผึ้งชันโรงในประเทศไทยมีจำนวนไม่มาก ประกอบกับคณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยบูรพามุ่งเน้นงานวิจัยที่จะร่วมพัฒนาและเพิ่มมูลค่าของทรัพยากรในภาคตะวันออก ซึ่งนอกจากทรัพยากรทางทะเลแล้วในภูมิภาคตะวันออกยังอุดมไปด้วยพื้นที่ทางการเกษตร การส่งเสริมให้เลี้ยงผึ้งชันโรงจะช่วยผสมเกสรจะช่วยให้เกิดความอุดมสมบูรณ์ของพืชพรรณ และยังช่วยเพิ่มรายได้จากผลิตภัณฑ์ผึ้งให้แก่เกษตรกร เช่น กรณีของนายวิสิทธิ์ ธนูอาจ เกษตรกรจาก ต.วังแซ้ม อ.มะขาม จ.จันทบุรี ได้ทำสวนผสมผสานในพื้นที่ 20 ไร่ พร้อมกันนั้นได้เลี้ยงชันโรงด้วย ช่วยเพิ่มรายได้จากเดิมคือสวนผลไม้ และจากรังชันโรงรวมถึงผลผลิตของชันโรง (กองบรรณาธิการหนังสือพิมพ์คม ชัด ลึก. 2550) และในการศึกษาเบื้องต้นของผู้วิจัยโดยใช้เทคนิค FTIR microspectrocopy เพื่อนำมาใช้ในการแยกชนิดของน้ำผึ้งชันโรงและน้ำผึ้งพันธ์พบว่าเทคนิคดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการแยกความแตกต่างของน้ำผึ้งชันโรงออกจากน้ำผึ้งพันธ์ที่มีขายทั่วไปได้ดี นอกจากนี้ยังประหยัดเวลาในการเตรียมตัวอย่างและไม่ต้องทำลายตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์ (Machana et al., 2012)

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษานี้ขึ้นเพื่อศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำผึ้งชันโรงในแหล่งเพาะเลี้ยงผึ้งต่างๆ และพัฒนาน้ำผึ้งชันโรงที่มีอยู่แล้วในชุมชนท้องถิ่นให้เป็นผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้งผสมชันจากชันโรง เนื่องจากชันถือเป็นผลพลอยได้จากชันโรงและมีรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่างๆเช่น กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ จึงควรนำมาใช้เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์อีกทางหนึ่ง นอกจากนี้น้ำผึ้งชันโรงจัดเป็นวัตถุดิบที่ได้จากแหล่งธรรมชาติในท้องถิ่นของชาวสวนในจังหวัดจันทบุรี และมีการขายเพื่อเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ ข้อมูลดังกล่าวตลอดจนผลิตภัณฑ์ที่ได้จากงานวิจัยจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการวิจัยอื่นๆ และพัฒนาการผลิตน้ำผึ้งและผลิตภัณฑ์จากผึ้งชันโรงรวมทั้งเป็นการส่งเสริมให้เกษตรเลี้ยงผึ้งชันโรงเพื่อเพิ่มรายได้นอกเหนือจากการทำเกษตรกรรม รวมทั้งทำให้เกิดการอนุรักษ์และขยายพันธุ์ชันโรงเพื่อก่อให้เกิดความสมดุลทางระบบนิเวศวิทยา และรักษาทรัพยากรธรรมชาติที่มีค่าได้อย่างยั่งยืน

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1) วิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีและทางกายภาพของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งอาหารที่ต่างกัน

2) ประยุกต์ใช้เทคนิค FT-Raman spectroscopyและ FT-IR spectroscopy ในการแยกความแตกต่างของน้ำผึ้งในแต่ละแหล่งอาหาร พร้อมทั้งเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับเทคนิคทั่วไป

3) พัฒนาน้ำผึ้งจากชันโรงเป็นผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้งผสมชันจากชันโรง

3. ขอบเขตของการวิจัย

เลี้ยงชันโรงในแหล่งอาหารที่ต่างกันทั้ง 5 แหล่งได้แก่ พื้นที่เปิดในสวนผลไม้ ป่าชายเลน สวนสมุนไพร ในเขตนาข้าว และพื้นที่ปิดในนาข้าว โดย ดร.สุมิตร คณะ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

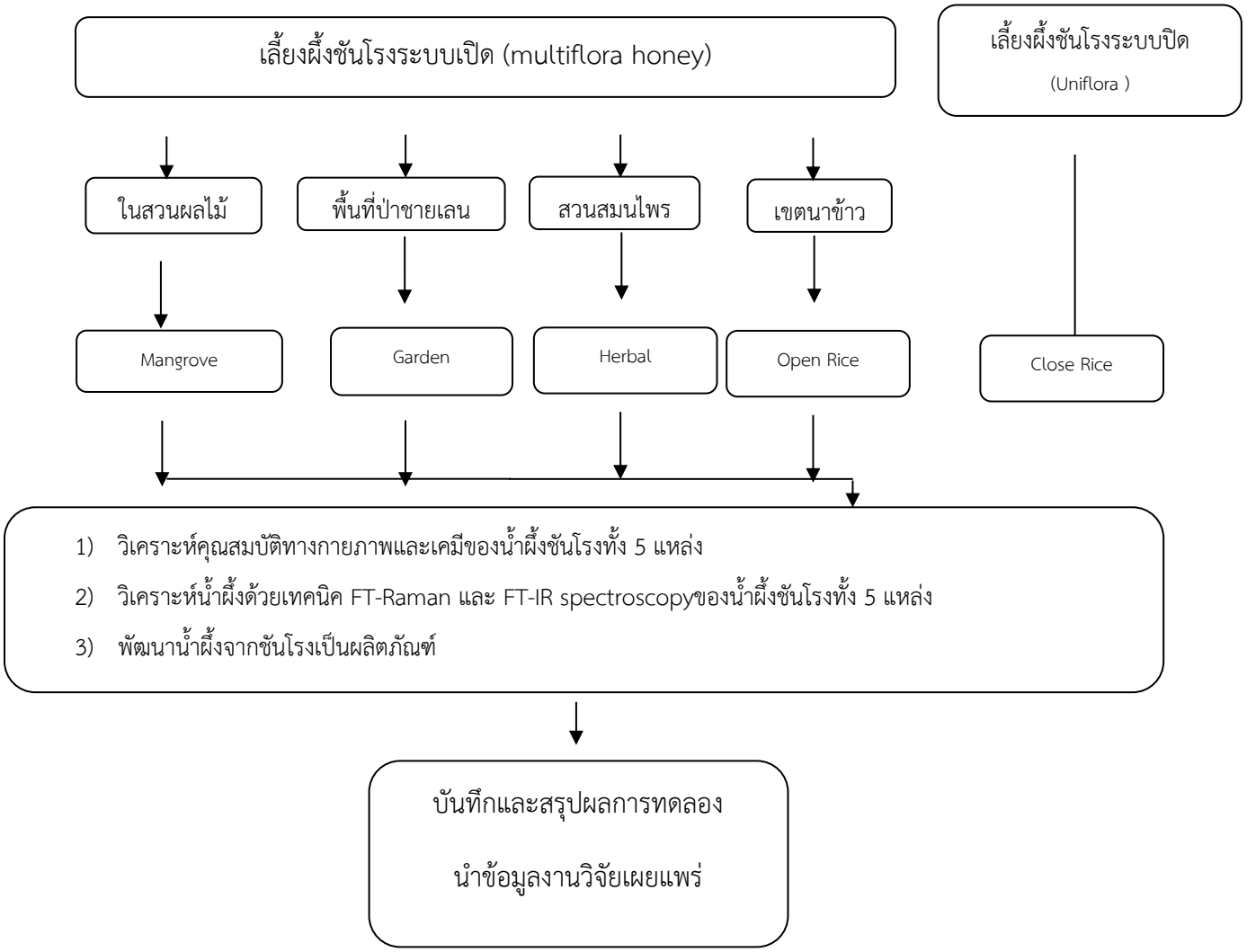
วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของน้ำผึ้งชันโรงในแหล่งอาหารทั้ง 5 แหล่งที่แตกต่างกัน ตามประกาศของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ด้วยวิธีมาตรฐานที่คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

วิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำผึ้งชันโรงในแหล่งอาหารต่างๆ ด้วยเทคนิค FT-Raman spectroscopy และ FT-IR spectroscopy ที่สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน) จังหวัดนครราชสีมา

พัฒนาน้ำผึ้งชันโรงเป็นผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้งผสมชันจากชันโรงซึ่งมีคุณภาพและชุมชนสามารถนำไปใช้ได้

4. ทฤษฎี สมมติฐานและ / หรือกรอบแนวความคิดของการวิจัย

คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้งมีความแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น เขตพื้นที่, ฤดูกาลและชนิดของเกสรดอกไม้ ดังนั้นคุณภาพน้ำผึ้งจากแหล่งอาหารที่ต่างกันทั้ง 4 แหล่ง ได้แก่ พื้นที่ในสภาพสวนกึ่งป่า ในสวนผลไม้ พื้นที่ป่าชายเลน และในเขตนาข้าว น่าจะมีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้งเช่นกัน และเทคนิค FT-Raman และ FT-IR spectroscopy เป็นเทคนิคที่สามารถวิเคราะห์ลายพิมพ์สเปกตรัมของน้ำผึ้งที่มาจากแหล่งอาหารที่แตกต่างกันได้ดังแผนภาพ



รูปที่ 1 กรอบแนวความคิดของการวิจัย

5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

งานวิจัยนี้เป็นการใช้ทรัพยากรธรรมชาติ ได้แก่ น้ำผึ้งชันโรง ที่มีการเลี้ยงอยู่แล้วของวิสาหกิจชุมชน ในจังหวัดจันทบุรี โดยบูรณาการให้เกิดการทำงานร่วมกันของหลายภาคส่วนได้แก่ คณะเภสัชศาสตร์และคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตรจังหวัดจันทบุรี(ผึ้ง) และกลุ่มเกษตรกรคนจันท์ชันโรงในจังหวัดจันทบุรี ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจากโครงการนี้จะเกิดประโยชน์ใน 3 ส่วนดังนี้

1) ประโยชน์แก่ชุมชนและสังคม กลุ่มเกษตรกรสวนผลไม้ได้รับการถ่ายทอดความรู้ถึงคุณภาพและมาตรฐานทั้งทางกายภาพและทางเคมีของน้ำผึ้งชันโรงและสามารถแปรรูปน้ำผึ้งชันโรงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพเพื่อการเพิ่มมูลค่าในเชิงพาณิชย์

2) ประโยชน์ด้านวิชาการ ผลลัพธ์ที่ได้จากโครงการวิจัยเช่น ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำผึ้งชันโรงและ การประยุกต์ใช้เทคนิค FT-Raman spectroscopy และ FT-IR spectroscopy ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำผึ้งของแต่ละแหล่งอาหาร ซึ่งจะถูกใช้เป็นฐานข้อมูลในการพัฒนาแหล่งเพาะเลี้ยงชันโรง ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการใช้ในทางพื้นบ้านจะได้รับการพิสูจน์ยืนยันให้ชัดเจนยิ่งขึ้น โดยองค์ความรู้และเทคนิคทั้งหมดจะถูกถ่ายทอดให้กับนักวิจัยหรือผู้สนใจทั่วไป นำไปต่อยอดงานในด้านอื่นๆให้เกิดประโยชน์ รวมทั้งมีการนำผลงานที่ได้เผยแพร่ในงานสัมมนาทั้งในและต่างประเทศ ตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารระดับชาติและนานาชาติ

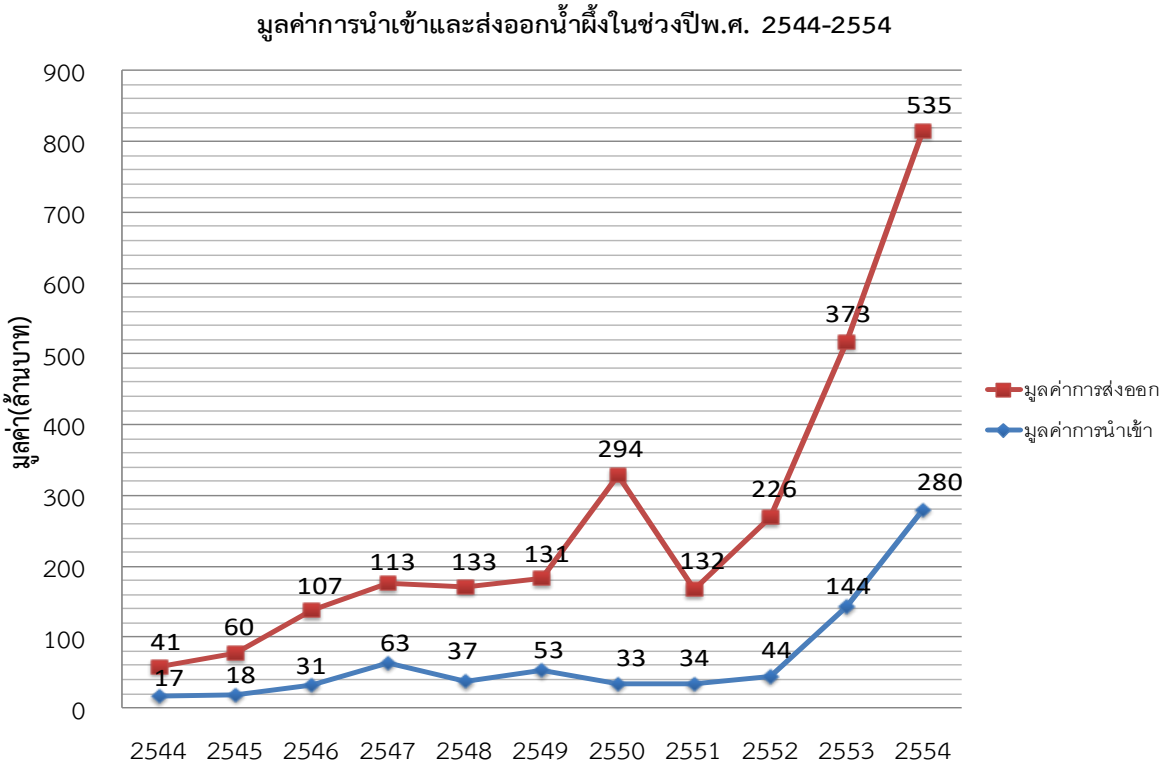
3) ประโยชน์แก่หน่วยงานต่างๆ หน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนที่สนใจเกี่ยวกับการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์พันธุกรรมพืชและสัตว์ สามารถนำผลที่ได้จาการศึกษา มาเป็นกรอบในการส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์ การกระจายความรู้สู่กลุ่มชุมชนในพื้นที่อื่นๆได้อย่างมีหลักเกณฑ์และมีแหล่งข้อมูลทางวิชาการที่อ้างอิงได้ เพื่อให้ชุมชนและท้องถิ่นมีจิตสำนึกในการอนุรักษ์ พัฒนาและใช้ประโยชน์ทรัพยากรของประเทศอย่างยั่งยืน

6. การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (Information) ที่เกี่ยวข้อง

6.1 มูลค่าการนำเข้าและส่งออกน้ำผึ้ง

จากปริมาณการผลิตน้ำผึ้งในตลาดโลกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยเฉลี่ยมีปริมาณการผลิต 1.0-1.2 ล้านตันต่อปีในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา ความต้องการน้ำผึ้งเพิ่มขึ้นมากในตลาดเอเชียและแอฟริกา ประเทศผู้ส่งออกน้ำผึ้งที่สำคัญในตลาดโลกคือจีน อาร์เจนตินา และเม็กซิโก (กองบรรณาธิการวารสารผู้ส่งออก. 2548: 8) อย่างไรก็ตาม ประเทศไทยถือว่าเป็นผู้เลี้ยงผึ้งอันดับต้น ๆ ในแถบเอเชีย และยังมีศักยภาพในการเลี้ยงผึ้ง ข้อมูลจากสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2555) พบว่า ในช่วงปี 10 ปีย้อนหลัง มูลค่าการส่งออกน้ำผึ้งของไทยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในปีพ.ศ.2544 ไทยมีมูลค่าการส่งออกน้ำผึ้ง 41,026,449 บาท แต่ในช่วงสองปีหลังการส่งออกน้ำผึ้งของไทยเพิ่มขึ้นแบบก้าวกระโดด โดยการส่งออกน้ำผึ้งมีมูลค่ามากถึง 373,478,033 บาท ในปี 2553 และ 535,349,118 บาท ในปี 2554 ตามลำดับ แม้ว่ามูลค่าการส่งออกจะลดลงบ้างในปี พ.ศ.2551 และ พ.ศ.2552 ประเทศที่ไทยส่งออกน้ำผึ้งเป็นมูลค่ามากกว่า 20 ล้านบาทโดยเรียงลำดับจากมากที่สุดในปี 2554 ได้แก่ เยอรมัน สหรัฐอเมริกา ซาอุดิอาระบีย จีน สหราชอาณาจักร เบลเยี่ยม ฝรั่งเศส อินโดนีเซีย มาเลเซีย และไต้หวัน ตามลำดับ ส่วนมูลค่าการนำเข้าน้ำผึ้งของไทย พบว่า มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน โดยประเทศที่ไทยนำเข้าน้ำผึ้งมามากที่สุดคือประเทศจีน การนำเข้าน้ำผึ้งจากจีนมีแนวโน้มมากขึ้นทุกปี ในปี 2554 การนำเข้ามีมูลค่ามากถึง 187,199,147 บาท ซึ่งมีมูลค่าเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ.2550 มาประมาณ 22 เท่า เดิมประเทศที่ไทยนำเข้าน้ำผึ้งเป็นอันดับสองคือประเทศออสเตรเลีย แต่ในช่วงสองปีที่ผ่านมาไทยหันมานำเข้าน้ำผึ้งจากเมียนมาร์ ในปี 2553 การนำเข้ามีมูลค่ามากถึง 31,132,116 บาทและปี 2554 นำเข้าเป็นมูลค่า 37,709,563 บาท จากเดิมที่นำเข้าเป็นมูลค่าต่ำมาก อย่างไรก็ตามการนำเข้าน้ำผึ้งจากออสเตรเลียก็มิได้ลดน้อยลง การนำเข้ายังมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปี และในปีนี้มูลค่าการนำเข้าน้ำผึ้งจากออสเตรเลียมีมูลค่าเป็น 19,698,740 บาท

เมื่อพิจารณามูลค่าการนำเข้าและส่งออกน้ำผึ้งของไทยตามรูปที่ 1 แสดงมูลค่าการนำเข้าและส่งออกน้ำผึ้งในช่วงปี พ.ศ. 2544-2554 จะเห็นได้ชัดเจนว่าในช่วง 10 ปีที่ผ่านมาไทยมีมูลค่าการส่งออกสูงกว่าการนำเข้า แม้ว่าในปัจจุบันมูลค่าการส่งออกของไทยจะน้อย แต่ไทยเป็นประเทศที่มีศักยภาพในการเลี้ยงผึ้ง เนื่องจากมีจุดแข็งทางด้านความหลากหลายของพืชหมุนเวียนในรอบปี และเกษตรกรมีพื้นฐานในการเลี้ยงผึ้งและผลิตผลิตภัณฑ์ผึ้งที่มีคุณภาพ ไทยจึงเป็นประเทศที่ถูกจับตามองว่าจะสามารถก้าวขึ้นเป็นประเทศผู้ผลิตน้ำผึ้งที่สำคัญในอนาคต (กองบรรณาธิการวารสารผู้ส่งออก. 2548)



รูปที่ 2 แสดงมูลค่าการนำเข้าและส่งออกน้ำผึ้งในช่วงปีพ.ศ.2544-2554 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555)

ชันโรงเป็นหนึ่งในชนิดผึ้งที่ให้น้ำผึ้งและเกสรได้ โดยให้น้ำผึ้งในปริมาณที่น้อยกว่าผึ้งรวง แต่น้ำผึ้งชันโรงหายากและมีราคาแพงกว่าน้ำผึ้งธรรมดาทั่วไป ทั้งนี้เพราะเชื่อว่ามีคุณค่าทางโภชนาการและทางยาสูงกว่าน้ำผึ้งชนิดอื่นๆ (สมนึก บุญเกิด และ ธนานิธ เสือวรรณศรี. 2544: 11-12) อีกทั้งเกษตรกรชาวสวนยังสามารถเลี้ยงชันโรงเพื่อช่วยในการผสมพันธ์เกสรดอกไม้เพื่อช่วยเพิ่มผลผลิตให้แก่พื้นที่เพาะปลูก รวมทั้งมีการอนุรักษ์และขยายพันธุ์ชันโรงในธรรมชาติเพื่อก่อให้เกิดความสมดุลทางระบบนิเวศวิทยา ดังนั้นการศึกษานี้จึงสนใจการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากผึ้งชันโรงนั่นคือน้ำผึ้ง

6.2 ผึ้งชันโรงและการเลี้ยงชันโรง

ผึ้งชันโรง (stingless bees) เป็นผึ้งที่มีพฤติกรรมคล้ายคลึงกับผึ้งรวง(honey bees)เป็นผึ้งชนิดที่ไม่มีเหล็กใน ชันโรง (stingless bees) จัดเป็นที่อยู่ในวงศ์เดียวกับแมลงกลุ่มผึ้ง (Apoidea) เผ่า (Tribe) Meliponinae (Michener, 2000, Wille, 1983) ในกลุ่มของ Meliponinae มีลักษณะที่ใช้แยกจากผึ้งทั่วไปจากลักษณะที่เด่น คือมีเส้นปีกคู่หน้าไม่ชัดมีกลุ่มขนแข็งคล้ายแปรง (penicillium) ที่บริเวณของปลายสุดของ

ขาหลัง และที่สำคัญมีเหล็กในที่ไม่เจริญ ในสกุล Meliponaมีส่วนหัวมีความกว้างมากกว่าความกว้างของอกรวม ขาหลังขยายใหญ่ (Schwarz, 1948) ชันโรงมีวิวัฒนาการสูงกว่าผึ้งป่าและผึ้งหึ่งพบอาศัยอยู่ในพื้นที่เขตร้อนเท่านั้น ในเขตอเมริกาใต้ผึ้งชันโรงมีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตน้ำผึ้งและไขผึ้งมาเป็นเวลานาน แล้วประเทศไทยพบชันโรง ทั้งหมด 2 สกุล คือ Trigona และ Hypotrigona ในสกุล Trigona พบทั้งหมด 39 ชนิดแพร่กระจายอยู่ทั่วประเทศไทยมีบทบาทที่สำคัญในด้านช่วยการผสมเกสรโดยชันโรงอาศัยอยู่ในธรรมชาติทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย (สิริวัฒน์ และคณะ, 2548; Michener and Boongird, 2004; Boontop et al., 2008) อาหารของผึ้งชันโรง คือ น้ำหวานและเกสรจากดอกไม้ นอกจากนี้ผึ้งชันโรงยังต้องการชันหรือยางจากพืชมาใช้ในการทำรัง และส่วนต่างๆ ภายในรัง ซึ่งผึ้งชันโรงจะต้องไปเก็บจากต้นไม้โดยรอบของที่ตั้งของผึ้งชันโรง ดังนั้นสิ่งแวดล้อมแหล่งอาหารของผึ้งชันโรงจึงมีผลต่อลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำผึ้ง ผึ้งชันโรงจะตอมพืชอาหารไม่เลือกชนิด ไม่ว่าดอกนั้นจะมีโครงสร้างและรูปร่างของดอดกเป็นอย่างไร ผึ้งชันโรงสามารถบรรทุกเกสรได้สองในสามของน้ำหนักตัว เกสรที่ผึ้งงานเก็บเข้ารังจะถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมของอาหารมากที่สุดรวมถึงสารสำคัญในน้ำผึ้งชันโรง(Michener and Boongird, 2004) ดังนั้นการเลี้ยงผึ้งชันโรงก็จำเป็นอย่างยิ่งจะต้องมีแหล่งอาหารที่สมบูรณ์เพื่อให้ผึ้งสามารถเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพ (สิริวัฒน์ และคณะ, 2548; Boontop et al., 2008)ผึ้งชันโรงจะตอมพืชอาหารไม่เลือกชนิด ไม่ว่าดอกนั้นจะมีโครงสร้างและรูปร่างของดอดกเป็นอย่างไร ผึ้งชันโรงสามารถบรรทุกเกสรได้สองในสามของน้ำหนักตัว เกสรที่ผึ้งงานเก็บเข้ารังจะถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมของอาหารมากที่สุด

6.3 การเลี้ยงผึ้งชันโรง

6.3.1 ชีววิทยาของผึ้งชันโรง

ผึ้งชันโรงมีการจัดองค์กรทางสังคมคล้ายกับผึ้งรวง (honey bees) มีความแตกต่างเป็นที่น่าสนใจทางชีววิทยาหลายด้าน ขนาดและจำนวนประชากรแตกต่างกันมากการเจริญเติบโตของ *T. laeviceps*รวมระยะเวลาตั้งแต่ระยะไข่ ระยะหนอน ระยะดักแด้และตัวเต็มวัยใช้เวลา 39-40 วัน (สมนึก, 2535; อัญชลี, 2546) และจากการศึกษาของ สุภาพ (2544) ถึงระยะเวลาการเจริญโตของ *T. pagdeni*ในแหล่งที่มีปริมาณอาหารที่แตกต่างกันที่มากขึ้นส่งผลให้ผึ้งชันโรงใช้เวลาในการเจริญเติบโตลดลง และเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้เร้วขึ้น ดังนั้นผลของความสมบูรณ์และชนิดของแหล่งอาหารจึงอาจเป็นปัจจัยในการผลิตน้ำผึ้งของผึ้งชันโรงเช่นกัน พฤติกรรมเก็บเกสรของชันโรง โดยชันโรงมีพฤติกรรมเข้าตอมดอกเพื่อเก็บเกสรด้วยการย่ำเดินไปบนดอกหรือลงบนกลุ่มเกสรหรืออับเรณูที่แก่และแตกแล้ว จากนั้นก็เริ่มพฤติกรรมใช้ปากแทะเล็มเกสร การย่ำบนดอกของผึ้งงาน สามารถเก็บรวบรวมเกสรเอาไปไว้ที่ตะกร้าเก็บเกสร ละอองเรณูหรือละอองเกสรที่ติดตามใต้ท้องของชันโรงถูกถ่ายลงบนยอดเกสรตัวเมีย (Boontop et al., 2008)

6.3.2 พฤติกรรมของผึ้งชันโรง

1) พฤติกรรมการหาอาหารของผึ้งชันโรงขึ้นอยู่กับขนาดของผึ้งชันโรงแต่ละชนิด โดยชันโรงขนาด (3-10 มิลลิเมตร) จะสามารถบินหาอาหารไกลจากรังได้ 300-800 เมตร ((Wille, 1983)นอกจากนี้สภาพอากาศสภาพแวดล้อมรอบรังชันโรงยังมีบทบาทต่อการพฤติกรรมการหาอาหารของชันโรงในช่วงที่ท้องฟ้าแจ่มใส มีแดดส่องทั่วถึงผึ้งชันโรงจะมีการนำเรณูและน้ำหวานกลับรังมากกว่าวันที่มีอากาศค่อนข้างมืดครึ้มผึ้งชันโรงออกหาอาหารจนไม่มีแสงแดดแล้ว จะกลับเข้ารังทั้งหมด(วันทา, 2546) 2) พฤติกรรมการเก็บน้ำต้อย (Nectar Collecting Behavior)ผึ้งชันโรงมีพฤติกรรมการเก็บน้ำผึ้งเช่นเดียวกับผึ้งรวงทั่วไป แต่มิได้เปลี่ยนพฤติกรรมการเก็บน้ำผึ้งไปตามปริมาณความต้องการของสมาชิกภายในรังที่ต้องการบริโภคน้ำผึ้ง ส่วนผสมของอาหารตัวอ่อนได้แก่ เกสร 80 % และ น้ำผึ้ง 20% ที่ผึ้งพี่เลี้ยงเก็บไว้ในการเพาะไข่นางพญา นางพญาจะวางไข่ก็ต่อเมื่อผึ้งพี่เลี้ยงสำรอกอาหารดังกล่าวลงในเซลล์ในปริมาณที่พอเหมาะ ด้วยเหตุนี้การเก็บน้ำผึ้งของผึ้งชันโรงจึงน้อยกว่าเกสร ทำให้มีน้ำผึ้งสะสมในรังน้อยกว่าเกสร ผึ้งชันโรงเป็นแมลงขนาเล็ก สามารถมุดเข้าไปถึงต่อมน้ำหวานของดอกปิดได้โยไม่ยาก การเก็บน้ำต้อยก็จะใช้ลิ้นดูซับน้ำต้อยเข้าไปในปากไปเก็บไว้ที่กระเพาะ แล้วนำมาสำรอกใส่ถ้วยน้ำผึ้งในรัง ส่วนหน้าที่บ่มน้ำผึ้งจะเป็นหน้าที่ของผึ้งงาน(ธนานิธ, 2544; ยุวริธร์, 2545) นอกจากนี้3) พฤติกรรมการเก็บชันผึ้ง (Propolis Collecting Behavior)เป็นพฤติกรรมที่เด่นของผึ้งชันโรง เพื่อนำไปใช้สร้างเซลล์วางไข่โยผสมกับไขผึ้งที่ผลิตได้น้อย และใช้ชันผึ้งในการฆ่าเชื้อโรค ใช้อุดรอยรั่วรูรั่วภายในรัง หรือใช้หมกศัตรูในรังที่ขนไปทิ้งนอกรังไม่ไหว ทำให้ผึ้งชันโรงจะต้องเก็บชันผึ้งเข้ารังทุกวันเหมือนการเก็บเกสร การเลี้ยงผึ้งชันโรงนอกจากเพื่อการผสมเกสรแล้ว ยังเก็บชันผึ้งได้อีกด้วย เพราะชันผึ้งมีสารที่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์สามารถนำมาสกัดเป็นยาได้ แต่ในประเทศไทยมีการสกัดสารออกฤทธิ์อยู่ในขั้นการทดลองสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของผึ้งชันโรง พบว่า มีสารจำพวก terpenoid เป็นหลัก และมีสาร flavonoids อยู่ด้วย คุณภาพของชันผึ้งชันโรงขึ้นอยู่กับชนิดของพรรณไม้ กรรมวิธีการผลิต และคุณภาพของน้ำผึ้งต่างถิ่นน่าจะมีสารและปริมาณสารออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันด้วย(ชามา, 2549; de Oliveira et al., 2002; Toher et al., 2007),)

จากทั้งลักษณะทางชีววิทยาของผึ้งชันโรงและพฤติกรรมต่างๆ ของชันโรงจึงส่งผลให้ประสิทธิภาพและคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำผึ้งชันโรงที่ได้จากการเลี้ยงผึ้งในแต่ละแหล่งอาหารที่แตกต่างกันนั้นจะมีความแตกต่างกัน ดังนั้นในการศึกษาความแตกต่างของแหล่งอาหารของชันโรงที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของน้ำผึ้งชันโรงจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง

6.4 น้ำผึ้งและการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้ง

น้ำผึ้งเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มนุษญ์ใช้เป็นอาหารและยามาเป็นเวลานาน (Ransome, 2004) ในประโยชน์ทางยามีการนำน้ำผึ้งมาเป็นส่วนผสมของการปรุงยาและเป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอาง ทำให้ความต้องการน้ำผึ้งมีปริมาณเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในปัจจุบันมีความต้องการน้ำผึ้งเป็นจำนวนมาก

เนื่องจากผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆได้พัฒนาผลิตภัณฑ์โดยนำน้ำผึ้งเข้าไปเป็นส่วนประกอบ เช่น เครื่องดื่มพร้อมดื่ม นมผงเด็ก ฯลฯ จากที่เคยหาเก็บน้ำผึ้งจากธรรมชาติเริ่มปรับสู่การนำผึ้งมาเลี้ยง เพื่อการค้า การเลี้ยงผึ้งเพื่อการค้านั้นมุ่งเน้นผลผลิตและการลดต้นทุนเป็นหลัก สาเหตุดังกล่าวนี้ทำให้คุณภาพน้ำผึ้งจากธรรมชาติเดิมเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงไป จึงจำเป็นต้องมีการกำหนดมาตราฐานคุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำผึ้ง เพื่อความถูกต้องและเป็นธรรมในการซื้อขายและเป็นประโยนช์ต่อผู้บริโภคมีการกำหนดมาตรฐาน น้ำผึ้งขึ้นทั่วโลกโดยองค์กร ที่รับผิดชอบในการกำหนดค่ามาตรฐานของผลิตภัณฑ์ต่างๆ ทาง ประเทศกลุ่มยุโรป ได้แก่ มาตรฐาน CODEX ทางประเทศสหรัฐอเมริกา ได้แก่ FDA ซึ่งมาตรฐานดังกล่าวได้กลายเป็นแนวปฏิบัติแก่ประเทศต่างๆ รวมถึงประเทศไทยด้วยในการผลิตน้ำผึ้ง เพื่อให้ได้น้ำผึ้งคุณภาพดี เพื่อขายและส่งออกในมาตรฐานที่กำหนดขึ้น มีการแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ใหญ่ ได้แก่ ด้านคุณภาพ และด้านความปลอดภัย(Codex Committee on Sugar, 2001; Bogdanovetal., 2004) ผลิตภัณฑ์จากน้ำผึ้งมีความแปรปรวนที่ค่อนข้างสูงเนื่องจากคุณภาพน้ำผึ้งนั้นจะขึ้นอยู่กับแหล่งพรรณไม้ที่ผึ้งอาศัยอยู่ สภาพแวดล้อมโดยรอบและฤดูกาล ความแตกต่างในสัดส่วนของน้ำต้อย (nectar) ที่รวมเข้ากันกับน้ำผึ้งจะขึ้นอยู่กับสภาพทางภูมิศาสตร์, ชนิดของพืช รวมถึงระยะเวลาหรือฤดูกาลของไม้พรรณไม้ที่ออกดอกในช่วงที่ทำการเก็บน้ำผึ้ง (Hewitson, 2009) จากความแตกต่างของส่วนประกอบในน้ำผึ้งจึงส่งผลต่อการบริโภค ในการระบุคุณสมบัติของน้ำผึ้ง เพื่อควบคุมและประเมินคุณภาพของแหล่งอาหารของน้ำผึ้งในการเพิ่มความเชื่อใจและมั่นใจต่อผู้บริโภค โดยทั่วไปวิธีการประเมินคุณภาพจากแหล่งอาหารของน้ำผึ้งนั้นค่อนข้างยากและมีความซับซ้อน ปกติแล้วต้องใช้การวิเคราะห์ทั้งคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำผึ้งเพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ถึงแหล่งอาหารของน้ำผึ้งชนิดนั้นๆ จึงจะเพียงพอ จากความหลายหลายและความแปรปรวนของส่วนประกอบในน้ำผึ้งจึงจำเป็นต้องใช้การวิเคราะห์ที่เป็นสากลและทั่วโลกยอมรับได้เสมือนการสร้างลายพิมพ์นิ้วมือ (fingerprint) และการรวบรวมข้อมูลอื่นๆ ที่เป็นประโยชน์ของวิธีการวิเคราะห์น้ำผึ้ง (Manzanares et al., 2010)

น้ำผึ้ง ตามความหมายที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม หมายถึง ของเหลวรสหวานซึ่งผึ้งผลิตขึ้นมาจากน้ำหวานจากดอกไม้หรือจากส่วนใดส่วนหนึ่งของต้นไม้แล้วสะสมไว้ในรังผึ้ง(Pierna et al., 2011)ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เพื่อกำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตรเรื่องน้ำผึ้งเป็นมาตรฐานทั่วไปตามพระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร พ.ศ.2551 เพื่อส่งเสริมสินค้าเกษตรให้ได้คุณภาพมาตรฐานและปลอดภัยไว้ดังนี้ 1) น้ำผึ้งเป็นของเหลวข้นเป็นเนื้อเดียวกัน ลักษณะใสไม่ขุ่นทึบ ปราศจากสิ่งแปลกปลอม มีสีตามธรรมชาติตั้งแต่สีเหลืองอ่อน ถึงสีน้ำตาลเข้ม 2) กลิ่น รส เฉพาะตัวตามธรรมชาติ ไม่มีกลิ่นผิดปกติ เช่น กลิ่นหมักหรือกลิ่นบูด 3) ความชื้นไม่เกินร้อยละ 21 ของน้ำหนัก 4)น้ำตาลกลูโคสรวมกับน้ำตาลฟรุกโทสไม่น้อยกว่าร้อยละ 60 ของน้ำหนัก หรือมีน้ำตาลรีดิวซิงคิดเป็นน้ำตาลอินเวิร์ตไม่น้อยกว่าร้อยละ 65ของน้ำหนัก 5)น้ำตาลซูโครสไม่เกินร้อยละ 5ของน้ำหนัก 6) สารที่ไม่ละลายน้ำไม่เกินร้อยละ 0.1 ของน้ำหนัก 7) เถ้าไม่เกินร้อยละ 0.6ของน้ำหนัก 8) ปริมาณกรดทั้งหมดไม่เกิน 50 มิลลิอิควิวาเลนต์ของกรดต่อ 1 กิโลกรัม 9) ค่าได

แอสเทส (Diastase number) ไม่น้อยกว่า 3 โกเต 10) สารไฮดรอกซีเมททิลเฟอร์ฟิวรัล (Hydroxymethylfurfural; HMF) ไม่เกิน 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 11) ค่าการนำไฟฟ้า ไม่เกิน 0.8 มิลลิซีเมนซ์ต่อเซนติเมตร ไม่ใช้วัตถุเจือปนอาหารไม่ใช้สีไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคไม่มีสารพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพไม่มีสารปนเปื้อนสารหนู, ตะกั่ว (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2556)อย่างไรก็ตามมาตรฐานน้ำผึ้งชันโรงในประเทศไทยยังไม่เคยมีการระบุไว้ตามประกาศมาตรฐานของปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในน้ำผึ้งจากผึ้งพันธุ์มีค่าสูงกว่าน้ำผึ้งชันโรง โดยน้ำผึ้งชันโรงมีสัดส่วนของปริมาณกลูโคสต่อน้ำตาลฟรุกโตสสูงกว่าน้ำผึ้งจากผึ้งพันธุ์ ในน้ำผึ้งชันโรงพบปริมาณกรดอะมิโน 15 ชนิด สูงกว่าน้ำผึ้งจากผึ้งพันธุ์ผลการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุ พบ Ca Mg และ P ในปริมาณมากในทุกตัวอย่างน้ำผึ้ง แต่พบวิตามินเฉพาะ B1 B6 และ Niacin ในน้ำผึ้งทุกชนิด แต่พบในปริมาณที่น้อยมาก (<0.10 Mg/100g) (อัญชลีและคณะ 2552)

เมื่อเร็วๆนี้ คุณสมบัติทั้งทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้งได้รับความสนใจเป็นอย่างมากทั้งนี้เพื่อ1) พิสูจน์และตรวจสอบการปลอมปนของน้ำผึ้งจากน้ำเชื่อมชนิดต่างๆ (เช่น อ้อย, บีท หรือน้ำเชื่อมชนิดที่มีฟลุคโตสในปริมาณมาก) (Paradkar et al., 2002; Toher et al., 2007), 2) บอกลักษณะเฉพาะของน้ำผึ้งว่ามาจากแหล่งพรรณไม้ดอกชนิดใด (Barteii et al., 2007) และ3) พิสูจน์เอกลักษณ์ของน้ำผึ้งได้ว่ามาจากแหล่งดอกไม้ชนิดเดียว (uniflora) หรือ ดอกไม้หลายชนิด (multiflora) (Ruoff et al.,2006)ซึ่งคุณภาพของน้ำผึ้งแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ เขตพื้นที่, ฤดูกาล, ชนิดของเกสรดอกไม้, กระบวนการผลิต, ภาชนะบรรจุ และสภาวะในการเก็บรักษา จากรายงานการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้งทั้งหมด 152 ชนิดใน Morocco พบว่ายังไม่สามารถใช้ยืนยันแหล่งอาหารที่แน่นอนของผึ้งได้ เนื่องจากผึ้งต่างชนิดกัน เลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่ต่างกันจะให้ผลผลิตน้ำผึ้งที่มีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่ไม่เหมือนกัน (Díez,Andrés, and Terrab (2004)ดังนั้นในการพัฒนาการควบคุมคุณภาพของน้ำผึ้งจึงมีความต้องการวิธีการตรวจสอบและติดตามคุณภาพแบบรวดเร็ว สะดวก และถูกต้องและการพัฒนาเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการแยกความแตกต่างของน้ำผึ้งที่มาจากแหล่งอาหารที่ต่างกันเพื่อเพิ่มความเชื่อมั่นในการขายและส่งออกน้ำผึ้งตามมาตรฐานที่กำหนดขึ้น ได้แก่ ด้านคุณภาพ และด้านความปลอดภัย อันจะมีผลต่อการเพิ่มมูลค่าของน้ำผึ้งที่ผลิตสู่ตลาดภายนอกต่อไป

นอกจากนี้น้ำผึ้งมีสารประกอบที่มีคุณสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) ที่สำคัญ คือ มีสมบัติเป็นสาร แอนติออกซิแดนท์หรือสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) สารออกฤทธิ์ต้านเนื้องอก (antitumor) สารออกฤทธิ์ต้าน การแข็งตัวของเลือด (anticoagulant) สารออกฤทธิ์ลด ไขมันในเลือด (anti-hyperlipidemic) และสารออกฤทธิ์ ต้านไวรัส (antiviral) เป็นต้น (Adnan et al, 2011) โดยสารแอนติออกซิแดนท์มีบทบาทในการชะลอ ยับยั้ง หรือขจัดอนุมูลอิสระ (free radicals) ที่เกิดขึ้นจาก ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction) โดยท้าหน้าที่ เป็นผู้ให้อิเล็กตรอน (electron donors) ผู้ให้โปรตอน

(hydrogen donors) รวมถึงมีบทบาทในการจับโลหะ (metal chelating) ด้วย ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation) ส่งผลให้อัตราการสูญเสียกลิ่น รส ลักษณะปรากฏ และคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์อาหารช้าลง (Khalil et al., 2011; Perez et al., 2006) รวมทั้งมี บทบาทในการชะลอหรือขจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายใน ร่างกายมนุษย์ ซึ่งสามารถป้องกันภาวะเครียดที่เกิดจากการออกซิเดชัน (oxidative stress) ได้ ท้าให้สามารถลดการ เกิดโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระภายในร่างกาย รวมทั้งชะลอ การแก่ก่อนวัย (Khalil et al., 2011; Adnan et al, 2011) ซึ่งในปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับสมบัติ การเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ของวัตถุดิบจากแหล่ง ธรรมชาติต่างๆ เช่น พืช ผลไม้ รวมไปถึงสาหร่าย ได้มีการศึกษากันอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลลิกและฟลาโวนอยด์ในน้ำผึ้งชันโรงในประเทศไทยจึงควรมีการทำการศึกษาต่อไปเพื่อเป็นการยืนยันผลการใช้ในเชิงภูมิปัญญาท้องถิ่นและสู่ชุมชนต่อไป

6.5 การประยุกต์ใช้เทคนิค Spectroscopy เพื่อศึกษาคุณภาพของน้ำผึ้ง

แม้ว่าในปัจจุบันนี้เทคนิคการตรวจยืนยันแหล่งผลิตอาหารจะมีหลากหลายเช่นในงานเขียนของ Luykxand Ruth (2008)ซึ่งได้เสนอหลักการตรวจวิเคราะห์ออกเป็น 4 กลุ่มคือ 1. Mass spectrometry technique (MS) 2. Spectroscopic technique 3.Separation technique และ 4. Other techniques (เช่น Sensory technique, PCR และ Sensory analysis) ในการวิเคราะห์คุณภาพของน้ำผึ้งรวมทั้งรสชาติ การวิเคราะห์ละอองเรณู การนำไฟฟ้า และ วิธีการวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมี ซึ่งวิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้งมีหลายวิธี ได้แก่ TLC, HPLC, อิเล็คโตรโฟลิซิส, C^{-13} NMR และ เทคนิคทาง spectroscopy ซึ่งในปัจจุบันมีงานวิจัยจำนวนมากให้ความสนใจในการใช้เทคนิคใช้สเปกโตรสโคปีในการวิเคราะห์และยืนยันแหล่งภูมิศาสตร์ของน้ำผึ้งด้วยการวัดความปลอมปนของน้ำผึ้งด้วยการใช้สเปกโตรสโคปีย่านใกล้อินฟราเรด (IR spectroscopic technique) จากปัญหาการพัฒนาการควบคุมคุณภาพของน้ำผึ้งจึงมีความต้องการวิธีการตรวจสอบและติดตามคุณภาพแบบรวดเร็ว สะดวก และถูกต้อง ของน้ำผึ้ง ซึ่งน้ำผึ้งจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ เขตพื้นที่, ฤดูกาล, ชนิดของเกสรดอกไม้, กระบวนการผลิต, ภาชนะบรรจุ และสภาวะในการเก็บรักษา(Ruoff et al., 2006) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจการใช้สเปกโตรสโคปี ทั้ง FT-IR และ FT-Raman spectroscopy ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์แบบรวดเร็วและประหยัดเวลา (FernándezPierna et al., 2011)

เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรสโคปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR) เป็นเทคนิคอินฟราเรดสเปคโตรสโคปีที่ใช้ อินเตอร์เฟอโรมิเตอร์ (Michelson Interferometer) ในการทำหน้าที่แยกแสงที่ผ่านออกจากเซลล์บรรจุสารตัวอย่างออกเป็นความยาวคลื่นต่างๆ ซึ่งเป็นเทคนิคที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในการวิเคราะห์ชนิดของสารจากหลักการการดูดกลืนแสงอินฟราเรดที่แตกต่างกันของสารแต่ละชนิด สารต่างชนิดกันจะมีรูปแบบการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกัน การศึกษารูปแบบการดูดกลืนแสงอินฟราเรดนี้จึงเปรียบเสมือนการเปรียบเทียบลักษณะลายนิ้วมือของคน โดยเครื่อง FTIR spectrometer มักใช้ในการวิเคราะห์การสั่นของโมเลกุลที่หมู่ฟังก์ชันต่างๆ เช่น O–H, N–H, C=O, =C–H, –

CH_2, $–CH_3$, C–O–C และP=O ที่พบในน้ำผึ้งได้(Wang et al, 2010; Khurana et al., 2008)วิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชัน และโครงสร้างทางเคมีของสาร โดยสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณโดยอาศัยหลักการดูดกลืนคลื่นแสงในช่วงอินฟราเรดที่ทำให้เกิดการสั่นของพันธะเคมีภายในโมเลกุล ซึ่งค่าความถี่ต่างๆ ของการสั่นในสเปกตรัมนั้นสามารถให้ข้อมูลเกี่ยวกับโมเลกุลของสารที่แน่นอนได้โดยกราฟที่แสดงจะสัมพันธ์กับแกนความถี่ โดยใช้วิธีการทางคณิตศาสตร์ที่เรียกว่า Fourier transform ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการแปลงจะถูกนาไปเขียนเป็นสเปคตรัมอินฟราเรด (กราฟระหว่างปริมาณความเข้มของแสงกับความถี่หรือเลขคลื่น) ซึ่งมีข้อดีได้แก่ความรวดเร็วในการวิเคราะห์ (เมื่อเทียบกับการใช้ grating ในการแยกแสงแบบเดิม) โดยจะใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่นาน (วินาที) ในขณะที่การวิเคราะห์ด้วยเครื่องอินฟราเรดแบบลาแสงคู่ (dispersive IR) จะใช้เวลาหลายนาที(Rios-Corripio et al., 2011)นอกจากเทคนิคอินฟราเรด (IR) จะใช้ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพเพื่อตรวจสอบ หมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลและวิเคราะห์โครงสร้างเคมีของน้ำผึ้งในเบื้องต้นแล้ว ยังสามารถใช้ในการวิเคราะห์น้ำผึ้งในเชิงปริมาณได้ เช่นการหาปริมาณหมู่แทนที่ การหาสัดส่วนหรือองค์ประกอบในน้ำผึ้งได้อีกทั้งเทคนิคนี้ยังสามารถแยกความแตกต่างของสารชีวโมเลกุลทั้งขนาดใหญ่และโมเลกุลเชิงซ้อน เช่น คาร์โบไฮเดตร , โพลีแซคคาไรด์, กรดนิวคลีอิก,โปรตีน,และลิพิด (Holman et al., 2000) จากการรายงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าเทคนิค FTIR spectroscopy เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ความแตกต่างและจำแนกแหล่งอาหารรของน้ำผึ้งพันธ์ และยังสามารถวิเคราะห์การปลอมปนของน้ำผึ้งจากน้ำเชื่อมต่างๆได้ โดยจากการศึกษาของ Garcia-Alvarez, et al. (2000) ทำการศึกษาปริมาณน้ำตาล ฟรุกโตส กลูโคส และความชื้นในน้ำผึ้งโดยใช้ตัวอย่างทั้งหมด 161 ตัวอย่างโดยจะใช้ตัวอย่างที่เก็บในปี คศ. 1992, 1995 และ 1996 การวิเคราะห์อ้างอิง จะใช้วิธี Enzymatic ใช้วิเคราะห์ ปริมาณน้ำตาล ฟรุกโตส และ กลูโคส และใช้วิธี refractometric ในการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นจากนั้นจะทำการ สร้างสมการ calibration ของตัวอย่างแต่ละปีและนำไปทำนายค่าในกลุ่มตัวอย่างของปีอื่นจะได้ผลการทำนายดี และ สร้างสมการ Calibration รวมของทั้ง 3 ปี โดยแบ่งตัวอย่างเป็นชุด calibration set 121 ตัวอย่างและ prediction set 40 ตัวอย่างผลการการทำนายที่ดีเช่นกัน Downey et al. ตรวจน้ำผึ้งปลอมปนโดยการเติมน้ำตาล ฟรุกโตส กลูโคส โดยใช้ Near-Infrared transflectance spectroscopy โดยเก็บตัวอย่างจากเกษตรกรโดยตรงในประเทศไอส์แลนด์และนำมาเติมน้ำตาลฟรุกโตส และ กลูโคส ผสมกัน ในอัตราส่วน 0.7:1, 1.2,1 และ 2.3:1 w/w เพื่อนำมาใช้ในการเปรียบเทียบน้ำผึ้งและน้ำผึ้งที่ผสมจะทำการ ปรับค่าของแข็งที่ละลายได้และนำมาวัดด้วย Visible and near infrared (400-2498 nm) transfections spectra น้ำผึ้ง จะถูกเลือกก่อนและหลังการเติมน้ำตาลที่ระดับ 7, 14, และ 21 w/w ด้วยสารละลายที่ผสมกันระหว่างกลูโคสกับฟรุก โตส การวิเคราะห์ทางคณิตศาสตร์โดยใช้ discriminant partial east squares regression (PLS1) มาใช้ในการแยกระหว่างน้ำผึ้งที่เติมน้ำตาลกับ น้ำผึ้งที่ไม่เติมน้ำตาลผลที่ได้สรุปว่าวิธีการทั้ง 3 จะมีการคัดแยกได้ถูกต้อง

เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มรามานสเปคโตรสโคปี(Fourier Transform Raman Spectroscopy) รามาน (Raman) เป็นปรากฏการณ์ในการกระเจิงของแสงรูปแบบหนึ่ง ที่เกิดจากการที่แสงตกกระทบวัตถุและส่งผลทาให้โมเลกุลของสารถูกกระตุ้นให้อยู่ในสถานะเร้า ซึ่งก็คือการที่พันธะระหว่างอะตอมในโมเลกุลถูกชักนำให้มีสภาพขั้วหรือ polarizibilityเปลี่ยนแปลงไป เป็นการวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชัน

เช่นเดียวกับเทคนิคอินฟราเรด แต่สามารถวิเคราะห์หมู่ฟังชันก์อื่นๆ ที่อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีวัดไม่ได้ ก็คือการที่ผลต่างของพลังงาน(หรือความถี่)ของแสงที่ตกกระทบกับพลังงานแสงที่กระเจิง (เรียกว่า Raman shift) จะมีค่าตรงกันกับพลังงาน (หรือความถี่) ของพันธะในการสั่นของโมเลกุลที่วัดได้จากเทคนิคอินฟราเรดดังนั้น สเปคตรัมที่ได้จากเทคนิครามาน จึงมีลักษณะคล้ายกันกับสเปคตรัมที่ได้จากเทคนิคอินฟราเรดต่างกันที่พีคบางพีคจะไม่สามารถสังเกตเห็นได้จากสเปคตรัมอินฟราเรด แต่จะสามารถสังเกตพบได้ในสเปคตรัมรามานเช่น หมู่ OH, CO, CC เป็นต้น(FernándezPierna et al., 2011) และโครงสร้างทางเคมีของสาร โดยสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณโดยอาศัยหลักการชนแบบไม่ยืดหยุ่นระหว่างโฟตอนกับโมเลกุลของสาร จากนั้นพลังงานบางส่วนจะถูกถ่ายเทไปยังโมเลกุลทำให้เกิดการสั่นของโมเลกุลแล้วเกิดกระเจิงออกไปข้อมูลที่ได้จากการกระเจิง (Paradkar andIrudayaraj, 2002)ในการวิเคราะห์แบบรามานนี้ก็มีประโยชน์มากในการนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์น้ำผึ้ง (และนิยมใช้เสริมกับเทคนิคอินฟราเรด)ตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-Raman เช่น polymer, powder และ liquidข้อดีของเทคนิค FT-Raman spectroscopy ที่ต่างจาก FT-IR spectroscopy มีดังนี้ 1) เป็นการวิเคราะห์ตัวอย่างจากกระบวนการกระเจิงของแสงดังนั้นสารตัวอย่างที่ใช้อาจจะมีรูปทรงหรือขนาดใดๆ ก็ได้2) สามารถใช้วัดสารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นหรือปริมาณน้อยได้3) ใช้วิเคราะห์สารตัวอย่างที่ละลายในน้ำได้ เนื่องจากโมเลกุลน้ำซึ่งมีสภาพขั้วสูงจะไม่เกิดสัญญาณรบกวนสเปคตรัมรามาน4) ที่ใส่สารตัวอย่าง (sample holder) เป็นวัสดุประเภทแก้ว ซึ่งมีราคาไม่แพงเมื่อเทียบกับ IR window บางตัว เช่น ZnSe และ 5) สามารถใช้วิเคราะห์ได้ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ (Ruoff et al., 2006)

ทั้งนี้เทคนิค FT-IR และ FT-Raman spectroscopy นี้มีความแตกต่างจากการเทคนิคการวิเคราะห์ทางชีวเคมีทั่วไป ได้แก่ เทคนิค High-performance liquid chromatography (HPLC) เทคนิคGas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) และเทคนิคที่อาศัยปฏิกิริยาทางเคมีอื่นๆ เป็นต้น ที่มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างยุ่งยาก ใช้สารเคมีราคาสูง และไม่สามารถทำเป็นฐานข้อมูลลายนิ้วมือของตัวอย่างน้ำผึ้งที่ทำการทดสอบได้ในการศึกษาเบื้องต้นของผู้วิจัยโดยใช้เทคนิค FTIR microspectrocopy เพื่อนำมาใช้ในการแยกชนิดของน้ำผึ้งชันโรงและน้ำผึ้งพันธ์พบว่าเทคนิคดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการแยกความแตกต่างของน้ำผึ้งชันโรงออกจากน้ำผึ้งพันธ์ที่มีขายทั่วไปได้ดี และยังสามารถแยกความแตกต่างของน้ำผึ้งชันโรงที่มาจากชนิดผึ้งที่ต่างกันได้ด้วย นอกจากนี้ยังประหยัดเวลาในการเตรียมตัวอย่างและไม่ต้องทำลายตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์ (Machana et al., 2012) ดังนั้นในการวิจัยนี้เทคนิค FT-IR และ FT-Raman spectroscopy จึงนำมาใช้ในการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำผึ้งที่มาจากแหล่งอาหารที่แตกต่างกัน เพื่อเป็นข้อมูลลายพิมพ์สเปกตรัมของน้ำผึ้งชันโรงที่เก็บได้จากแหล่งอาหารต่างๆ และเปรียบเทียบผลการทดลองกับเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำผึ้ง ซึ่งจะนำไปสู่การประยุกต์ใช้เทคนิคดังกล่าวในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของแหล่งผลิตน้ำผึ้งชันโรงได้

6.6 ลูกอมเม็ดนิ่ม (pastille)

ลูกอมเม็ดนิ่ม (pastille) ใช้เพื่อจุดประสงค์ให้ผู้ได้รับยาเคี้ยวด้วยแรงเล็กน้อยและสามารถละลายได้ช้าๆในปาก ลักษณะทางกายภาพคล้ายเจลหรือเจลลี่ที่มีความแข็งมากขึ้นและความหนืดที่แตกต่างออกไป (USP 31/NF 26, 2008) การผลิตเภสัชภัณฑ์รูปแบบนี้จะมีองค์ประกอบอื่นๆเช่น น้ำตาล น้ำ ขี้ผึ้ง และสารเพิ่มรสชาติอื่นๆ สารสำสำคัญที่ใช้อาจอยู่ในรูป สารละลาย สารแขวนตะกอนหรือของแข็ง ที่ละลายหรือแขวนตะกอนอย่างสม่ำเสมอขณะเตรียม ซึ่งเมื่อเตรียมเสร็จเทลงในแบบพิมพ์ (mold) เมื่อของเหลวแห้งหรือเย็นตัวจะคงรูป องค์ประกอบที่อยู่ในเภสัชภัณฑ์จะสามารถปลดปล่อยหรือละลายออกมาอยู่ในช่องปาก สารสำคัญจะถูกดูดซึมบริเวณเยื่อเมือกของผนังช่องปากหรือทางเดินอาหาร สารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอาจเป็นสารจากธรรมชาติซึ่งมีรสชาติที่ดีนิยมนำมาทำเป็นเภสัชภัณฑ์อาจเนื่องมาจากสาระสำคัญอยู่ในรูปน้ำมันจากธรรมชาติเช่น น้ำมันหอมระเหย หรือสารสกัดเข้มข้นที่มีแอลกอฮอล์เป็นองค์ประกอบสูง องค์ประกอบสำคัญในการผลิตขึ้นรูปได้แก่ เจลาติน กลีเซอรีน เพคติน แป้ง (starch)อัลจิเนต (alginate)และกัมอะราบิก (gum arabic) ซึ่งจะทำหน้าที่ไฮโดรคอลลอยด์โดยเป็นสารยึดจับองค์ประกอบอื่นๆให้อยู่ในผลิตภัณฑ์ ปริมาณไฮโดรคอลลอยด์ที่ผสมอยู่ในตำรับเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่ออัตราการปลดปล่อยยาตามเวลาที่ต้องการ นอกจากนี้ยังเป็นปัจจัยสำคัญที่เพิ่มความแข็งของเภสัชภัณฑ์ (Gelatin Manufacturers Institute of America, 2012) ตัวอย่างกลไกการเกิดเป็นเจลได้จากพอลิแซ็กคาไรด์ (เพคติน เจลาติน อัลจิเนต) ที่กระจายตัวอยู่ในสารละลายจับกับไอออนของโลหะเกิดเป็นองค์ประกอบเชิงซ้อนทำให้พอลิแซ็กคาไรด์สูญเสียน้ำออกจากโครงสร้างส่งผลให้สายโซ่ของพอลิแซ็กคาไรด์ เข้าใกล้กันจนเกิดความแข็งแรงมากขึ้น เราสามารถปรับปรุงความแข็งของเจลได้โดยการเปลี่ยนแปลงชนิดพอลิแซ็กคาไรด์ ความยาวและความซับซ้อนของสายโซ่ น้ำหนักโมเลกุล ตัวทำละลาย ไอออนในการเกิดองค์ประกอบเชิงซ้อน (Sriamornsak et al, 2006) การเตรียม pastille สามารถทำได้โดยการละลายน้ำตาลและรสชาติจนเข้ากันเป็นเนื้อเดียว แยกอีกภาชนะละลายเจลาตินและเพคตินให้เข้ากัน ในน้ำร้อน หลังจากนั้นผสมสารใน 2 ภาชนะเข้าด้วยกันเติมสารสำคัญและแต่งสี หลังจากนั้นเทลงแบบพิมพ์ที่ถูกเช็ดด้วยน้ำมันหรือแป้ง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องไว้เป็นเวลา 1 วันจะได้ pastille ตามที่ต้องการ

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

1. การเก็บน้ำผึ้งชันโรงที่เลี้ยงในแหล่งต่างๆ เพื่อทำการเปรียบเทียบคุณภาพของน้ำผึ้งชันโรงในแหล่งอาหารแบบปิดและแหล่งอาหารตามธรรมชาติ

น้ำผึ้งชันโรงระบบเปิด น้ำผึ้งชันโรงจากทั้งหมด 4 แหล่ง ได้แก่ 1) สวนผลไม้ (สวนผลไม้จันทรฟาร์ม อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี) 2) สวนสมุนไพร (อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี) 3) ป่าชายเลน (อ่าวคุ้ง กระเบน จังหวัดจันทบุรี) 4) นาข้าวระบบเปิด (มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี)

การวางกล่องผึ้งชันโรงและการเก็บน้ำผึ้ง (ระบบเปิด)

1. ทำการเลือกพื้นที่ที่เหมาะสมของแหล่งอาหารในธรรมชาติ โดยเลือกพื้นที่ที่เป็นแปลงปลูกข้าวสายพันธุ์ข้าวหอมปทุมธานี 1 จำนวน 1 แปลงทดลอง ในพื้นที่ปลูกข้าวของสาขาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี โดยมีการวางรังเลี้ยงกล่องชันโรง ในระยะก่อนข้าวออกรวง จำนวน 3 กล่อง และทำการเก็บน้ำผึ้งชันโรง หลังจากดอกข้าวบานแล้ว ในช่วงเดือนพฤศจิกายน

หาพื้นที่ที่เหมาะสมในสภาพที่มีแหล่งอาหารแตกต่างกัน ดังนี้ คือ พื้นที่สวนผลไม้ (อ.มะขาม จังหวัดจันทบุรี) พื้นที่ป่าชายเลน (บริเวณอ่าวคุ้นกระเบน) แหล่งละ 3 รัง เมื่อครบกำหนดทำการเก็บน้ำผึ้งชันโรง (*Tetragonula pagdeni*) ตามวิธีการของเกษตรกร สุ่มตัวอย่างน้ำผึ้งแหล่งละ 3 ตัวอย่าง สำหรับส่งวิเคราะห์

การวางกล่องผึ้งชันโรงและการเก็บน้ำผึ้ง (ระบบปิด)

ทำการเลือกพื้นที่ที่เหมาะสมของแหล่งอาหารในสภาพธรรมชาติ โดยเลือกพื้นที่ที่เป็น แปลงปลูกข้าวสายพันธุ์ข้าวเศรษฐกิจ จำนวน 1 แหล่ง และมีการปลูกข้าวพร้อมกับการเลี้ยงชันโรง (*Tetragonula pagdeni*) ในสภาพโรงเรือนแบบปิด การปลูกข้าวในร่วมกับการเลี้ยงชันโรงในโรงเรือนแบบปิด โดยปลูกข้าวในถังพลาสติก ขนาดเส้นผ่านศูนย์ กลาง 30 เซนติเมตร สูง 40 เซนติเมตร นำดินผสมใส่ลงในถังปลูกแล้วนำต้นกล้าข้าวลงปลูก จำนวน 5 ต้นต่อถัง เมื่อต้นข้าวเริ่มออกรวง นำต้นข้าวไปไว้ในโรงเรือนแบบปิด ขนาด 2x3x2 เมตร หลังคามุงด้วยพลาสติก และบุด้านข้างด้วยตาข่ายไนล่อน เมื่อข้าวออกรวงนำกล่องชันโรงมาวางในโรงเรือน จำนวน 1 กล่องต่อโรงเรือน และทำการเก็บน้ำผึ้งชันโรง หลังจากดอกข้าวบานแล้ว ในช่วงเดือนพฤศจิกายน นำกล่องเลี้ยงชันโรง จำนวนแหล่งละ 3 รัง มาเลี้ยงตามแหล่งอาหารที่กำหนด เมื่อครบกำหนดทำการเก็บน้ำผึ้งชันโรงตามวิธีการของเกษตรกร สุ่มตัวอย่างน้ำผึ้งแหล่งละ 3 ตัวอย่าง สำหรับส่งวิเคราะห์

รูปที่ 3 การวางกล่องเลี้ยงผึ้งชันโรงที่บริเวณนาข้าวระบบปิด

2. การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำผึ้งชันโรงที่ได้จากแหล่งต่างๆ

การเตรียมสารละลายน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ โดยละลายน้ำผึ้ง 2 กรัม ในน้ำบริสุทธิ์ปริมาตร 10 ml นำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใน waterbath เป็นเวลา 30 นาที เพื่อละลายผลึกเล็กๆที่มีอยู่ในน้ำผึ้งให้หมด (Dyce, 1975) และ (Cana et al., 2001)

2.1) การวิเคราะห์หาปริมาณสารไฮดรอกซีเมททิลเฟอร์ฟิวรัล (5-Hydroxymethyl-2-furfural)

นำตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ ไปวิเคราะห์หาปริมาณ 5-Hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF) ดัดแปลงจากวิธีของ Licht and others (1992c) โดยใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ยี่ห้อ Agilent Technology 1260 infinity โดยสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของสารไฮดรอกซีเมททิลเฟอร์ฟิวรัล ในตัวทำละลาย เมทานอลที่ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 20 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารตัวอย่างมาตรฐานและสารตัวอย่างน้ำผึ้งกรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.45 µm แล้วทำการฉีดตัวอย่างเข้าสู่ระบบโครมาโตกราฟีเพื่อทำการวิเคราะห์ โดยแต่ละตัวอย่างทำการทดลองซ้ำจำนวน 3 ครั้ง สภาวะของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ในอัตราส่วนของอะซีโตนไนไตร : น้ำ (80:20) อัตราการไหล (flow rate) ที่ 1.0 ml/min ปริมาณสารที่ใช้ฉีด ตัวอย่างที่ 20 µl ด้วยคอลมัน์ RP-C18 (HPLC Column Thermo Scientific Hypersil) ขนาด 5 µm 4.6 x 250 mm ทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 284 นาโนเมตร

สร้างกราฟเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นต่อพื้นที่ใต้พีค (peak area) ของสารมาตรฐาน และคำนวณหาปริมาณสาร HMF ในน้ำผึ้ง

2.2) **การวิเคราะห์หาองค์ประกอบ มาตรฐานของน้ำผึ้ง (น้ำตาลเซลลูโลส น้ำตาลกลูโครส (D-Glucoses) น้ำตาลฟรุกโตส และน้ำตาลมอลโตส)**

เตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลซูโครส กลูโคส (D-Glucoses) ฟรุกโตส และน้ำตาลมอลโตส ในน้ำบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 mg/ml จากนั้นกรองสารละลายน้ำผึ้งชันโรงและสารละลายมาตรฐานน้ำตาลผ่านเมมเบรน ขนาด 0.45 µm เก็บในขวด vial สีชา

วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลมาตรฐานในน้ำผึ้งชันโรงแต่ละแหล่งด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ที่ต่อกับตัวตรวจวัดมาตรดัชนีหักเห (RI) โดยสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ด้วยการฉีดสารละลายมาตรฐานน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 20 µl ผ่าน HPLC column Luna® 5µm NH_2 100A° ขนาด 250 x 4.6 mm โดยใช้ mobile phase ในอัตราส่วนของอะซีโตนไนไตร : น้ำ (80:20) อัตราการไหล (flow rate) ที่ 2.0 ml/min เพื่อแยกองค์ประกอบน้ำตาลของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ

3. การทดสอบหาองค์ประกอบและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้ง

3.1 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกในน้ำผึ้ง

การหา total phenolic content ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (ดัดแปลงจาก Vonsak et al. (2013) นำตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ผสมกับ Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นเติม 7.5% (w/v) Na_2CO_3 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันทิ้ง ไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ Microplate reader ที่ ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานความเข้มข้นของ Gallic acid (ดังรูปที่ 4) นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากงวงตาลตัวผู้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน gallic acid ที่ได้โดยแสดงปริมาณ ฟีโนลิกเป็น gallic acid equivalent (mg GAE/g dry weight สารตัวอย่าง)

3.2 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในน้ำผึ้ง

การหา total flavonoid content ด้วย aluminum chloride colorimetric method มาจากการศึกษาของ Chang et al. (2002) เตรียมสารตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรงที่ ความเข้มข้น 1000 µg/ml ปริมาตร 100 µl ผสมกับ 100 µl ของ aluminum chloride ($AlCl_3$) solution ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer จากนั้นนำค่าการดูดกลืน

แสงที่วัดได้ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน quercetin solution (1-1000 µg/ml) ที่ได้ โดยแสดงปริมาณ quercetin เป็น quercetin equivalent (QE) ต่อกรัมของตัวอย่าง

4.. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งชันโรง

4.1 การทดสอบด้วยวิธีการ DPPH Radical Scavenging Assay ตามวิธีของ Vongsak et al. (2015)

การวัดความสามารถของ free radical scavenger ของสารทดสอบ ได้แก่ สารเคมี อาหาร เครื่องดื่ม เป็นต้น โดยใช้ stable radical DPPH ทำปฏิกิริยากับกับสารทดสอบ สารทดสอบที่มีคุณสมบัติสามารถรับ hydrogen atom (H•) ทำให้ DPPH• กลายเป็น non-radical พร้อมกับสีที่หายไปที่ absorbance 520 nm

การศึกษาฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ 1 mM 2, 2-diphenyl-1-picryhydrazyl (DPPH) ในสารละลายเอธานอลเป็นสารทดสอบและใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน เตรียมสารสกัดหยาบจากงวงตาลตัวผู้ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน และสารละลายอนุพันธ์ของวิตามินซี หรือ trolox) 10-1000 µg/ml) ผสม 20 µl ของสารละลายมาตรฐาน trolox หรือสารสกัดหยาบจากงวงตาลตัวผู้กับ 180 µL ของ 1.0 mM DPPH ใน methanol solution ลงใน 96-well plate ทิ้งไว้ที่อุณภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหา %radical scavenging activity เทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานวิตามินซีเพื่อหาความเข้มข้นที่ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้ 50% (IC_{50}) ตามสมการ

$$\frac{\text{Absorbance}_{\text{control}} - \text{Absorbance}_{\text{Test sample}}}{\text{Absorbance}_{\text{control}}} \times 100$$

4.2 การทดสอบด้วยวิธี ABTS assay ตามวิธีของ Vongsak et al. (2015)

เตรียมสารละลาย ABTS (2,2'-Azino-bis(3ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) โดยผสม 7mM ABTS กับ 2. 45mM $K_2S_2O)_8$Dipotassium peroxodisulphate) ให้เข้ากันแล้วเจือจางด้วยสารละลายเมทานอล ในอัตราส่วน ABTS :สารละลายเมทานอล เท่ากับ ต่อ 4 วัดค่าการดูดกลืนแสงให้อยู่ 1 ในช่วง.7-0. ที่ความยาว คลื่น 734 9nm และเตรียมสารสกัดตัวอย่างให้ได้ความเข้มข้น 1mg/ml ด้วยตัวทำละลาย ผสมสารละลาย ABTS ที่เจือจางแล้วกับสารสกัดตัวอย่างผสมให้เข้ากัน โดยให้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 20 µl วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734nm ทำการทดลอง ซ้ำ โดยใช้ 3Trolox เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ คำนวณหาปริมาณ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) จากกราฟ

มาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดกับค่า absorbance ของ Trolox และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหา %radical scavenging activity เทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานวิตามินซีเพื่อหาความเข้มข้นที่ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้ 50% (IC_{50}) ตามสมการ

$$\frac{\text{Absorbance}_{\text{control}} - \text{Absorbance}_{\text{Test samples}}}{\text{Absorbance}_{\text{control}}} \times 100$$

5. การวิเคราะห์น้ำผึ้งชันโรงด้วยเทคนิค FT-IR spectroscopy และ FTIR RAMAN spectrometer

นำตัวอย่างน้ำผึ้งผสมกับน้ำในอัตรส่วน 1: แล้วนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีแล้วนำมาวิเคราะห์ โดยใช้ FTIR spectrometer แบบ Single Reflection ATR หรือนิยมเรียกว่า Miracle โดยทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Tensor 27 (Bruker) ที่มีระบบตรวจวัด DTGS detector ทำการวัดที่ 64 scans , 4 cm-1 ด้วยโปรแกรม Opus 7.2 Bruker และเครื่อง FTIR Raman spectroscopy (Vertex 70 , laser module 1064 nm excitation) โดยทดลองที่ 300 mW , 4 cm-1, 300 scans แล้วนำมาวิเคราะห์ โดยใช้โปรแกรม OPUS 7.5 และทำการวิเคราะห์สเปกตรัมเพื่อแบ่งกลุ่มน้ำผึ้งในแต่ละแหล่ง โดยใช้สเปกตรัม IR ของน้ำผึ้งแต่ละแหล่งด้วยการวิเคราะห์ PCA analysis

6. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบ Total phenolic ในน้ำผึ้งชันโรงด้วยเทคนิค FT-IR , FT-RAMAN spectroscopy และ Folin-Ciocalteu

นำข้อมูลการวิเคราะห์ปริมารสารประกอบ Total phenolic ในน้ำผึ้งจากป่าชายเลนที่ความเข้มข้น 125 µg/ml 250 µg/ml และ 500 µg/ml จำนวนความเข้มข้นละ 50 ซ้ำ วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu, FTIR spectroscopy และ FTIR RAMAN spectroscopy จากนั้นนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ correlatives relation ของเทคนิคดังกล่าวด้วย Quant 2 analysis โดยใช้โปรแกรม OPUS 7.5 เพื่อสร้าง calibration ในการทำนายผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลลิกในน้ำผึ้งระหว่างเทคนิค FT-IR spectroscopy และ Folin-Ciocalteu กับ FT-RAMAN spectroscopy และ Folin-Ciocalteu

7. การศึกษาพัฒนาผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้งผสมชันจากชันโรง

พัฒนาผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้งผสมชันจากชันโรงโดย ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อผลิตภัณฑ์ พัฒนาสูตรตำรับต่างๆให้เหมาะสม ตรวจสอบคุณลักษณะและประเมินผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้ทางกายภาพ

7.1. การตั้งตำรับยาอมเม็ดนิ่มจากน้ำผึ้ง

7.1.1 การเตรียมยาอมเม็ดนิ่มสามารถทำได้โดย หลอมเจลาตินหลังจากนั้นเติมน้ำผึ้ง ผสมให้เข้ากัน เติมสารช่วยอื่นๆ ในตำรับตามตาราง 1 ตั้งทิ้งไว้จนมีอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แต่งกลิ่น เทลงพิมพ์ รอจนเย็น แกะออกจากแม่พิมพ์และน้ำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปประเมิน

7.1.2 ผลของปริมาณเจลาติน

7.1.3 ศึกษาปริมาณะทัลคัมที่ส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของยาอมเม็ดนิ่ม ที่ร้อยละ 1, 2.5 และ 5

7.1.4 ผลของปริมาณไฮดรอกซีโพรพิลเมธิลเซลลูโลส (เอชพีเอ็มซี: HPMC) ศึกษาปริมาณเอชพีเอ็มซีที่ส่งผลต่อสมบัติทางกายภาพของยาอมเม็ดนิ่ม ที่ร้อยละ 5,1

ตาราง 1 ตำรับยาเม็ดนิ่ม

Ingredient	**%w/w**					
	F1	**F2**	**F3**	**F4**	**F5**	**F6**
Honey	15	15	15	15	15	15
Gelatin	20	20	20	20	20	20
Glycerol	50	40	40	40	40	40
Talcum	-	1	2.5	5	1	1
HPMC	-	-	-	5	10	15
Sodium benzoate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Chocolate flavor	qs	qs	qs	qs	qs	qs
Water qs to	100	100	100	100	100	100

7.2 การประเมินตำรับยาอมเม็ดนิ่ม

7.2.1 การประเมินน้ำหนัก (weight variation)

ชั่งน้ำหนักยาอมเม็ดนิ่ม 20 เม็ด คำนวณหาค่าเฉลี่ย บันทึกผล mean±SD

7.2.2 การประเมินขนาด

วัดความกว้าง ความยาว และความสูงของ ยาอมเม็ดนิ่ม จำนวน 10 เม็ด โดยใช้ Thickness Gauge คำนวณหาค่าเฉลี่ย บันทึกผล mean±SD

7.2.3 การประเมินเนื้อสัมผัส (Texture property)

ประเมินยาอมเม็ดนิ่มสูตรละ 3 เม็ด โดยใช้เครื่อง texture analyzer (TA_XT plus, Stable micro system, UK) ขนาด cylindrical probe 2 มม. บันทึกแรงที่ใช้ในการทำให้ยาอมเม็ดนิ่มแตก

บทที่ 3

ผลการวิจัย

1 การเก็บน้ำผึ้งชันโรง (*Tetragonula pagdeni*) ระบบเปิด

แหล่งน้ำผึ้งระบบเปิดได้ทำการศึกษาในสวนผลไม้ ป่าชายเลน สวนสมุนไพร และนาข้าว โดยทำการตั้งรังชันโรงและเก็บตัวอย่างพื้นที่ละ 3 รัง ตามพื้นที่ต่างๆ (รูปที่ 4) ดังนี้

1. พื้นที่สวนผลไม้ ณ อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี (ช่วงเดือนกันยายน 2560 -เดือนกุมภาพันธ์ 2561) ดังรูปที่ 1

2. พื้นที่ป่าชายเลน ณ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี (ช่วงเดือนมิถุนายน – เดือนกันยายน 2561)

3. พื้นที่สวนสมุนไพร ณ อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี (ช่วงเดือนเมษายน – กันยายน 2561)

4. พื้นที่นาข้าวระบบเปิดและระบบปิด (มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี) (ช่วงเดือนเมษายน – พฤศจิกายน 2561)

รูปที่ 4 การเก็บตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรงในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ 2561 ในสวนผลไม้ อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี

1.1. การเลี้ยงชันโรงในแปลงนาข้าว

การเลี้ยงชันโรงในนาข้าว โดยการวางกล่องชันโรงจำนวน 3 กล่องในโรงเรือนชั่วคราว วางอยู่ด้านข้างแปลงนา ในระยะข้าวออกรวงและเก็บตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรง ในระยะหลังจากข้าวเริ่มติดเมล็ดแล้ว (รูปที่ 5)

รูปที่ 5 การเลี้ยงชันโรงในแปลงนาข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในแปลงนาข้าวสาขาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

1.2 การเลี้ยงชันโรงร่วมกับการปลูกข้าวในโรงเรือนแบบปิด

การเลี้ยงชันโรงในโรงเรียนแบบปิด โดยการสร้างโรงเรือนด้วยโครงเหล็กขนาด 2x3x2 เมตร หลังคามุงด้วยพลาสติก และบุด้านข้างด้วยตาข่ายไนล่อน นำต้นข้าวปลูกลงในถังพลาสติกแล้วจำนวน 3 โรงเรือนนำไปวางไว้ในโรงเรือน จำนวน 8 กระถางต่อหนึ่งโรงเรือน และนำกล่องชันโรงไปวางไว้ในโรงเรือง จำนวน 1 กล่องในระยะข้าวเริ่มออกรวง และทำการเก็บตำอย่างน้ำผึ้งชันโรงในระยะข้าวเริ่มติดเมล็ด (ดังรูปที่ 6)

รูปที่ 6 การเลี้ยงชันโรงร่วมกับการปลูกข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในโรงเรือนแบบปิด ในแปลงทดลองสาขาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี

2 การสร้างโรงเลี้ยงผึ้งระบบปิด

โรงเลี้ยงชันโรงระบบปิดตั้งอยู่ที่มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี ดังรูปที่ 7.

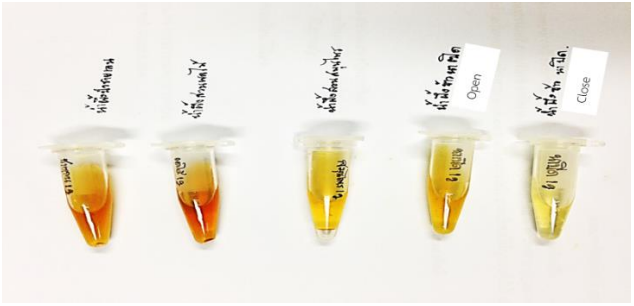
รูปที่ 7 โรงเลี้ยงผึ้งระบบปิด ณ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดจันทบุรี

จากผลการศึกษาการเก็บน้ำผึ้งชันโรง *Tetragonula pagdeni* ในระบบเปิดพบว่าปริมาณน้ำผึ้งจากสวนผลไม้ให้ผลผลิตต่อรังมากที่สุดถึงประมาณ 700 มิลลิลิตรต่อรัง ตามด้วยน้ำผึ้งจากป่าชายเลน (300-500 มิลลิลิตรต่อรัง) และนาข้าว (< 100 มิลลิลิตรต่อรัง) ตามลำดับ (น้ำผึ้งจากสวนสมุนไพรมีปริมาณน้อยกว่า 50 มิลลิลิตร จึงใช้สำหรับบางการศึกษาเท่านั้น)ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณน้ำผึ้งชันโรงที่ทำการเก็บในแต่ละแหล่ง

แหล่งที่เลี้ยงชันโรง	ป่าชายเลน (Mangrove)	สวนผลไม้ (Garden)	สวนสมุนไพร (Herbal)	นาข้าวระบบเปิด (Open)	นาข้าวระบบปิด (Close)
ปริมาณน้ำผึ้งเฉลี่ยต่อรัง (ml)	350	700	< 100 (*)	< 100	< 100

จากลักษณะทางกายภาพอื่นที่สังเกตได้ เช่น สีของน้ำผึ้ง แสดงดังรูปที่ 8 น้ำผึ้งชันรงจากป่าชายเลน สวนผลไม้มีสีน้ำตาล และน้ำผึ้งชันโรงจากสวนสมุนไพร นาข้าวระบบเปิด และระบบปิดมีสีเหลืองอ่อน โดยสีของน้ำผึ้งชันโรงจากนาปิดมีความใสและหอมหวาน รสชาติดีกว่าน้ำผึ้งชันโรงอื่นดังแสดงในรูปที่ 8

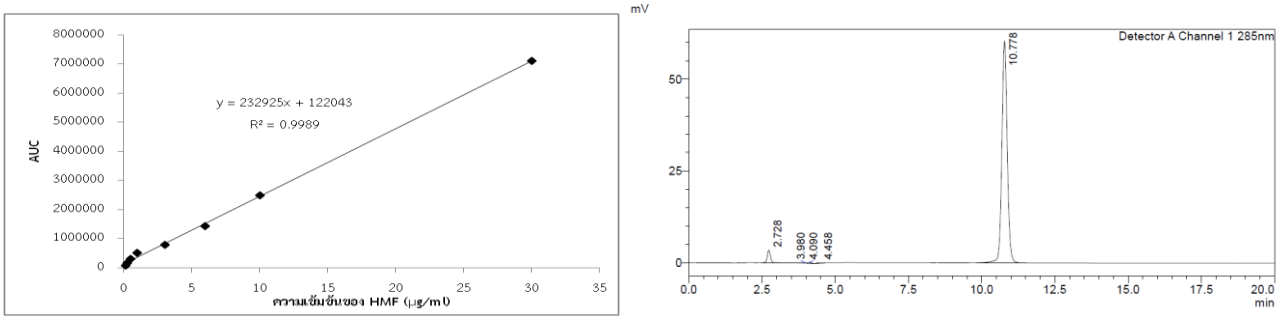


รูปที่ 8 ลักษณะน้ำผึ้งชันโรงที่เก็บได้จากแหล่งต่างๆ ทั้ง 5 แหล่ง

3. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีบางประการของน้ำผึ้งชันโรง

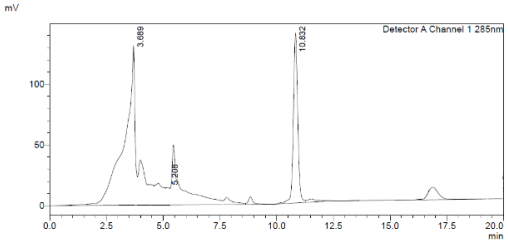
3.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารไฮดรอกซีเมททิลเฟอร์ฟิวรัล (Hydroxymethylfurfural; HMF) ด้วยเทคนิค HPLC

ตามมาตรฐานน้ำผึ้ง ระบุสารไฮดรอกซีเมททิลเฟอร์ฟิวรัล (Hydroxymethylfurfural; HMF) ในน้ำผึ้งไม่เกิน 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยจากผลการทดลองพบว่ามีสาร HMF ในน้ำผึ้งชันโรงแต่ละแหล่ง ไม่เกินมาตรฐานกำหนด โดยปริมาณสาร HMF ในน้ำผึ้งชันโรงจะทำการวิเคราะห์ด้วยด้วยเทคนิค HPLC ในน้ำผึ้งจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ ป่าชายเลน, สวนผลไม้, นาข้าวระบบเปิด และนาข้าวระบบปิด มีค่าเป็น 3.8 ±0.01 mg/kg, 2.4 ± 0.20 mg/kg, 0.35 ± 0.06 mg/kg และ0.12 ± 0.01 mg/kg ตามลำดับดังแสดงในรูปที่ 9 และ 10 ตามลำดับ และตารางที่ 3

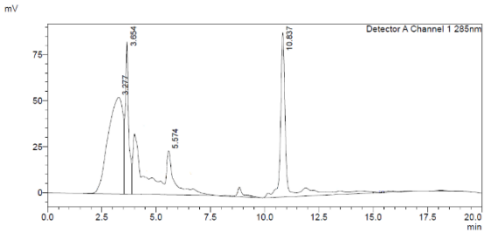


รูปที่ 9 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน Hydroxymethylfurfural; HMF และกราฟสารละลายมาตรฐาน

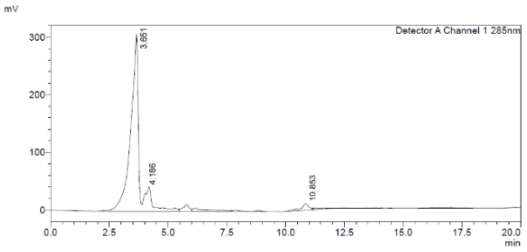
Honey Mangrove



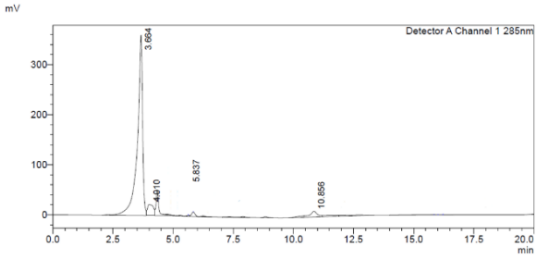
Honey Garden



Honey open



Honey Close



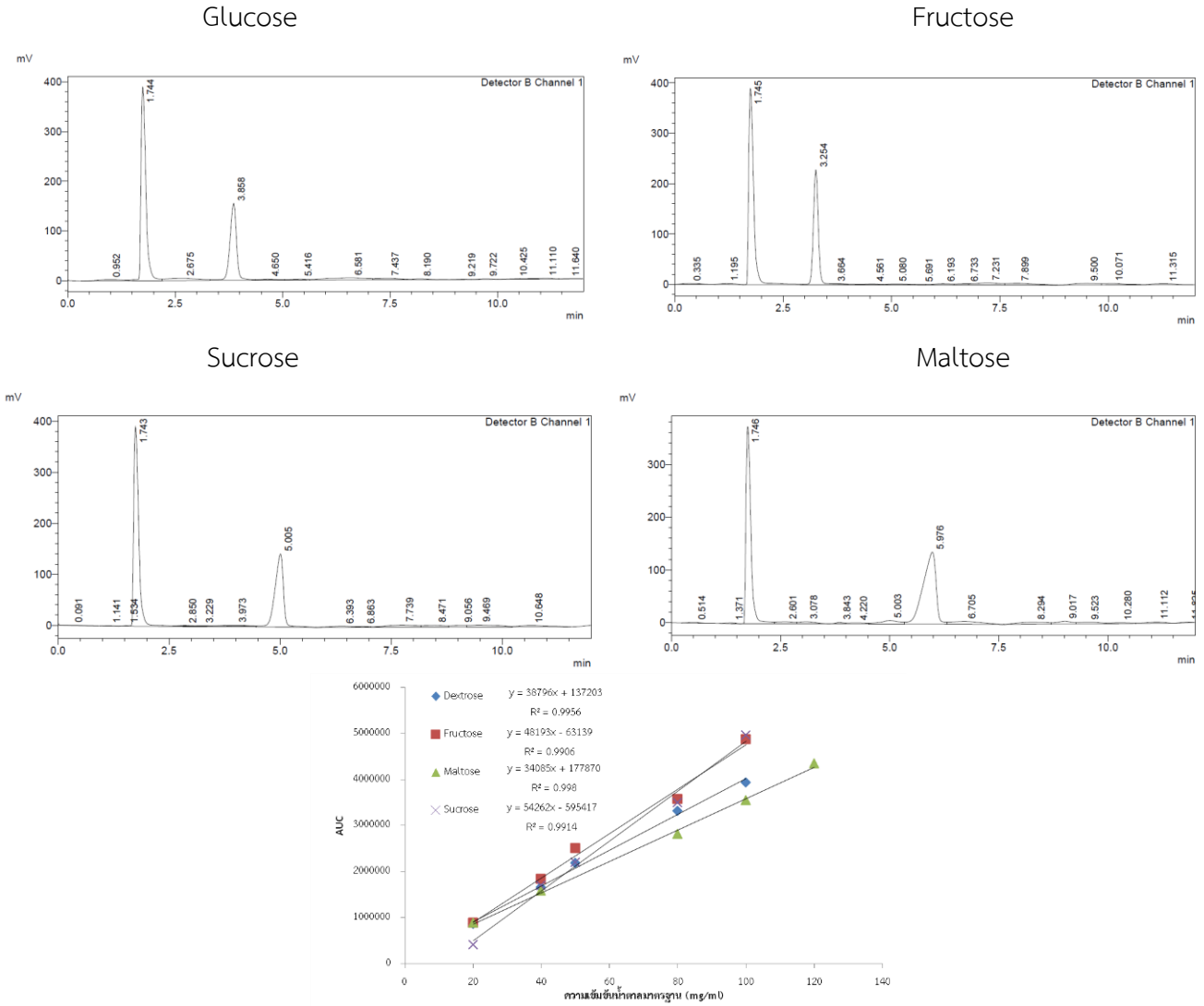
รูปที่ 10 โครมาโทแกรมการวิเคราะห์หาปริมาณ HMF ของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ

ตารางที่ 3 ปริมาณสาร HMF ที่พบในน้ำผึ้งจากแหล่งต่างๆ

	น้ำผึ้งป่าชายเลน	น้ำผึ้งสวนผลไม้	น้ำผึ้งนาข้าว (เปิด)	น้ำผึ้งนาข้าว (ปิด)
HFM (mg/ kg)	3.8 ±0.01	2.4 ± 0.20	0.35 ± 0.06	0.12 ± 0.01

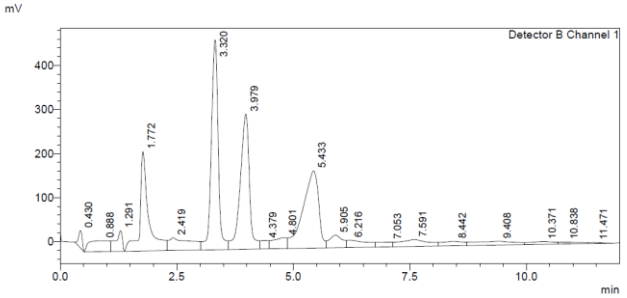
3.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในน้ำผึ้งชันโรงด้วยเทคนิค HPLC

จากการวิเคราะห์น้ำตาลในน้ำผึ้งชันโรงทั้ง 4 แหล่ง พบว่าน้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลน, สวนผลไม้, และนาข้าวระบบปิด มีปริมาณน้ำตาลกลูโคส (RT เท่ากับ 3.85 min) น้ำตาลฟรุกโทรส (RT เท่ากับ 3.25 min) และน้ำตาลมอลโทส (RT เท่ากับ 5.97 min) เป็นส่วนประกอบที่ความเข้มข้นไม่เกินมาตรฐานกำหนด ดังแสดงในตารางที่ ส่วนน้ำผึ้งจากนาข้าวระบบเปิด พบว่ามีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเกินมาตรฐาน 0.39% ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นๆ ไม่เกินมาตรฐานกำหนด โดยน้ำผึ้งทุกชนิดไม่พบส่วนประกอบของน้ำตาลซูโครส (RT เท่ากับ 5.00 min) นอกจากนี้ยังพบว่ามีพีคของน้ำตาลที่ไม่ทราบชนิด (unknown) ซึ่งมี RT เท่ากับ 5.42 min เป็นส่วนประกอบในน้ำผึ้งชันโรงทุกชนิด ดังแสดงในรูปที่ 11 และ 12 ตามลำดับ ตารางที่ 4

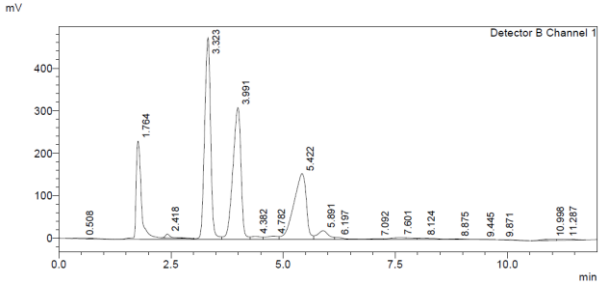


รูปที่ 11 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส ซูโครส และน้ำตาลมอลโทส และ กราฟของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างๆ

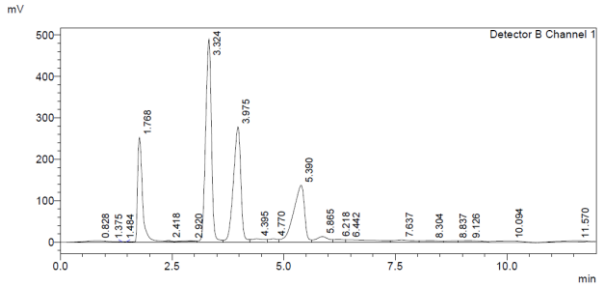
Honey Mangrove



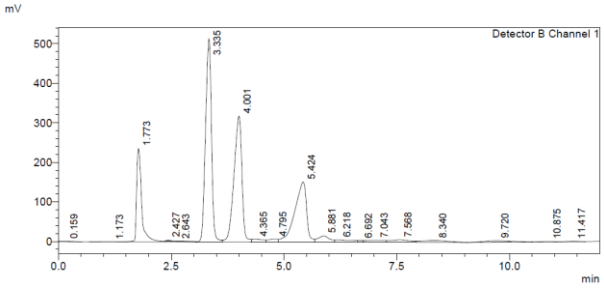
Honey Garden



Honey Close



Honey Open



รูปที่ 12 โครมาโตแกรมน้ำตาลของสารละลายน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ ด้วยวิธี HPLC

ตารางที่ 4 ปริมาณน้ำตาลในสารละลายน้ำผึ้งจากแหล่งต่างๆ

ชนิดน้ำตาลตามมาตรฐาน	น้ำผึ้งป่าชายเลน	น้ำผึ้งสวนผลไม้	น้ำผึ้งนาข้าว (เปิด)	น้ำผึ้งนาข้าว (ปิด)	น้ำผึ้งมาตรฐาน
Glucose	30.47%	29.61%	31.60%	29.70%	31.21%
Fructose	26.61%	26.24%	26.34%	21.87%	38.19%
Sucrose	NF	NF	NF	NF	1.31%
Maltose	1.81%	2.35%	1.92%	1.83%	7.35%

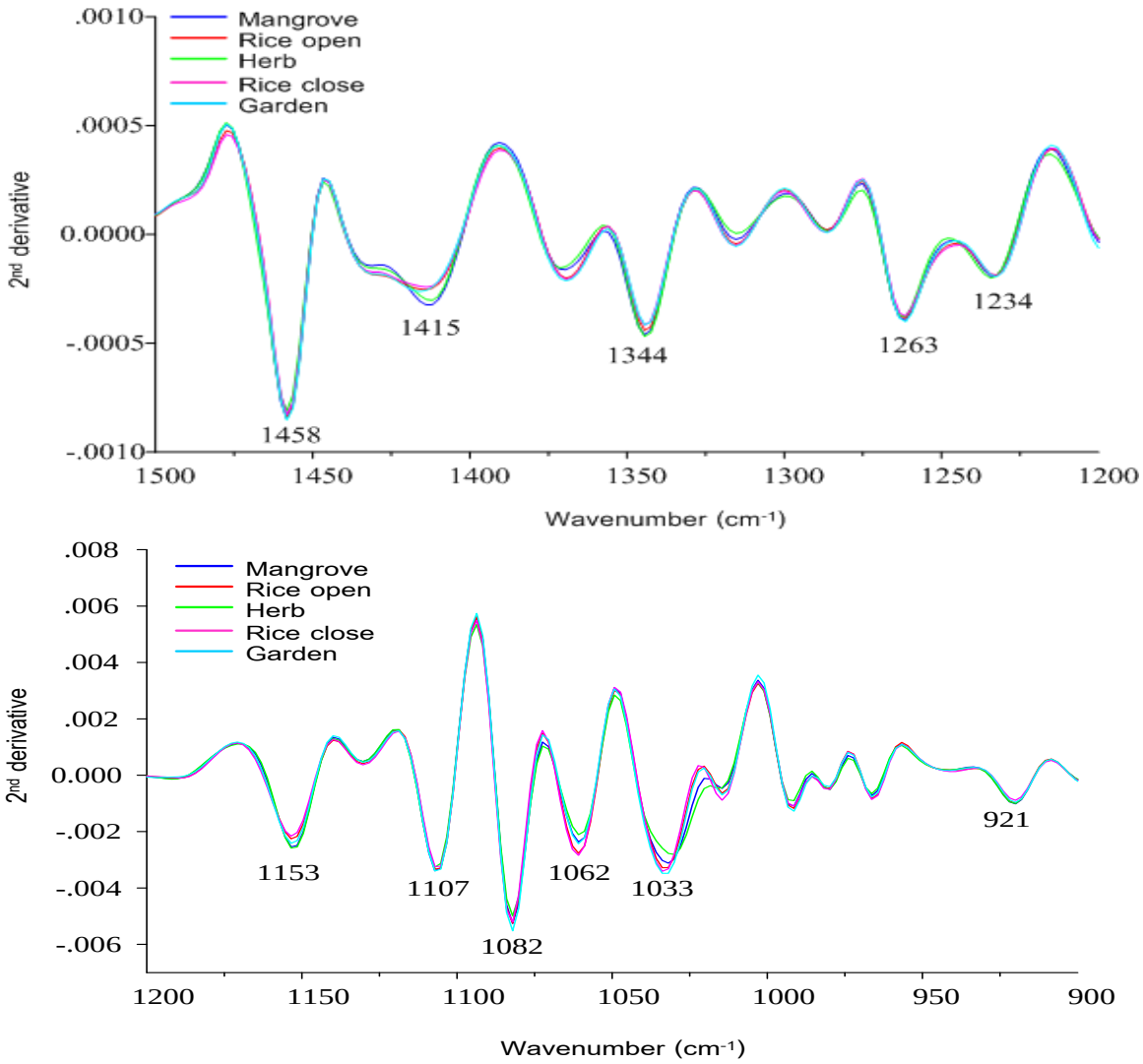
NF หมายถึง ไม่พบน้ำตาลมาตรฐาน Sucrose

4. ผล**การวิเคราะห์น้ำผึ้งชันโรงด้วยเทคนิค FT-IR spectroscopy และ FTIR RAMAN spectrometer**

4.1 ผลการวิเคราะห์ FTIR spectroscopy- ของน้ำผึ้งจากต่างๆ

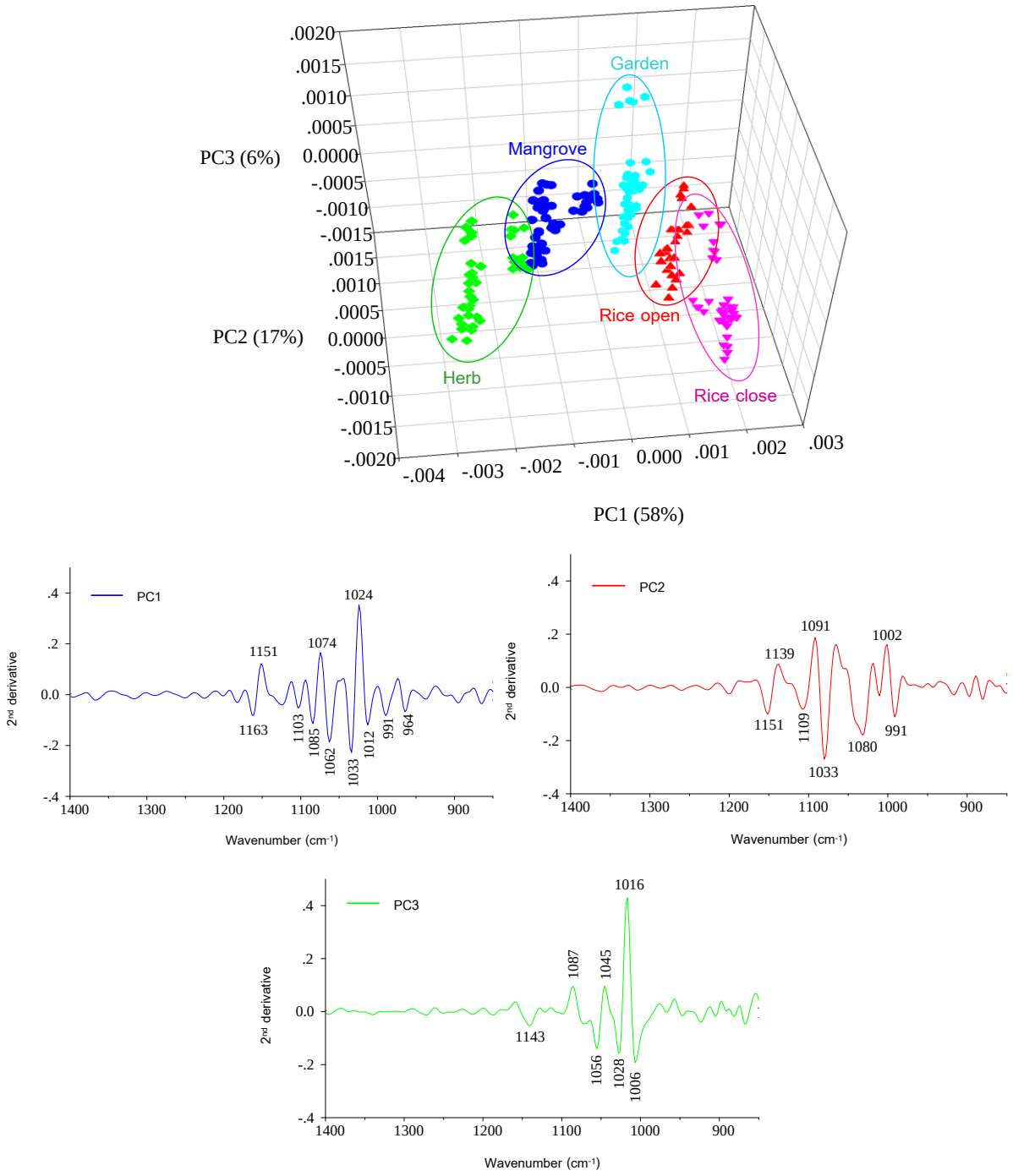
จากผลการวิเคราะห์นำผึ้งชันโรงที่เก็บในพื้นที่ต่างๆ แสดงผลดังรูปที่ 13 โดยพีคจาก IR spectrum จะแสดงถึงการสั่นของหมู่ฟังก์ชันที่สอดคล้องกับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ในที่นี้จะทำการวิเคราะห์หมู่น้ำตาลซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำผึ้ง จากภาพที่ แสดงสเปกตรัมเดิมเฉลี่ยของน้ำผึ้ง ที่ความยาวคลื่น 1500-800 nm ซึ่งเป็นช่วงความยาวคลื่นที่สอดคล้องกับช่วงของน้ำตาลซูโครส กลูโคลส ฟรุโตส (about 60–75 %) และกรดอินทรีย์ต่างๆ (Anjos et al. 2014) โดยที่ช่วงความยาวคลื่น 1500-1200 (Deformation of CH_2/C-C-H/H-C-O) และ 1200-950 (Sugar region) มีความแตกต่างของพีคต่างๆจะนำมาทำการเปรียบเทียบความสามารถในการแยกน้ำผึ้งที่ได้จากแหล่งต่างๆได้ จากการทดลองตัวอย่างน้ำผึ้งจาก 5 แหล่งแสดง IR spectrum และ 2^{nd} derivative ของน้ำผึ้ง ดังรูปที่ 13

โดยที่ช่วงคลื่นที่ 1427 cm^{-1} และ 1355 cm^{-1} เป็นช่วงคลื่นที่มีการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน O-CH และC-C-H ในโครงสร้างคาร์โบไฮเดรต หรือการสั่นของหมู่ฟังก์ชั่น OH ที่อยู่ในหมู่ C-OH ช่วงความยาวคลื่นที่ 1259 - 1153 cm^{-1} เป็นช่วงคลื่นที่มีการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C-H stretching หรือ CO ของคาร์โบไฮเดรต ช่วงความยาวคลื่นที่มากที่สุดที่ 1107 ถึง 1080 cm^{-1} เป็นช่วงที่มีการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C-O ใน C-O-C ของคาร์โบไฮเดรต ช่วงคลื่นที่ 1062 ถึง 970 cm^{-1} ป็นช่วงที่มีการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C-O stretching ใน C-OH ของคาร์โบไฮเดรต และที่ช่วง 890-810 เป็นช่วงการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน CH ในวงแหวนอะโรมาติก



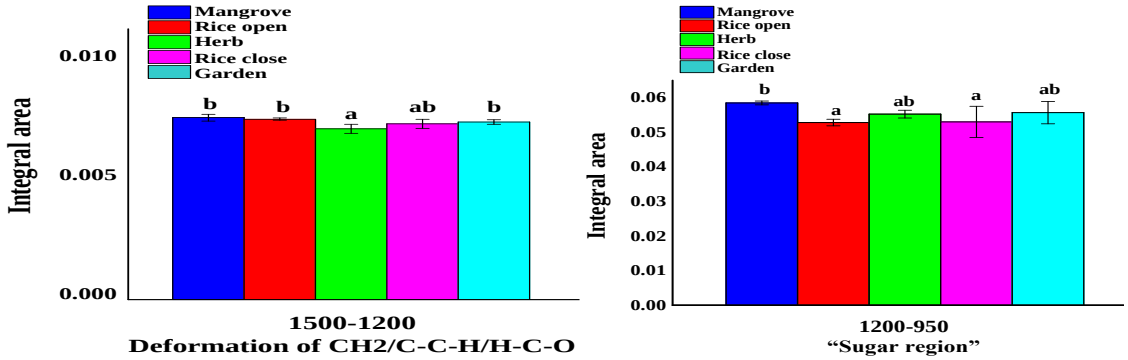
รูปที่ 13 IR spectrum และ 2nd derivative ของน้ำผึ้งชันโรงที่เก็บจากป่าชายเลน (สีน้ำเงิน) สวนผลไม้ (สีฟ้า) สวนสมุนไพร (สีเขียว) นาข้าวเปิด (สีแดง) และ นาข้าวปิด (สีชมพู)

จากผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำผึ้งโดยใช้ PCA analysis พบว่าน้ำผึ้งจากทั้ง 5 แหล่งมีความแตกต่างกันที่ PC1 (58%) ซึ่งมี loading plot ของ PC1 สูงสุดที่สเปกตรัม 1024 cm^{-1}, 1074 cm^{-1} และ 1151 cm^{-1} ซึ่งเป็นช่วงของน้ำตาลที่ใช้แยกความแตกต่างของน้ำผึ้งทั้ง 5 แหล่ง และที่ PC 2 ใช้แยกความแตกต่างระหว่างน้ำผึ้งชันโรงได้ 17% มี loading plot ของ PC 2 ที่ใช้แยกความแตกต่างของน้ำผึ้งที่สเปกตรัม 1030 และ 1091 cm^{-1} ซึ่งเป็นช่วงของน้ำตาลดังแสดงในรูปที่ 14



รูปที่ 14 Principle component analysis (PCA) ของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ และ loading plot.

จากผลการวิเคราะห์ FTIR spectroscopy พบว่าหมู่ฟังก์ชั่นของน้ำตาลที่ 1024, 1074, 1151, 1033 และ 1091 cm-1 ใช้แยกความแตกต่างของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ ได้ ดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์ integration area ของสเปตรัมทั้ง 2 ช่วงคลื่นที่ช่วงความยาวคลื่น 1500-1200 (Deformation of CH2/C-C-H/H-C-O) และ 1200-950 (Sugar region) ดังแสดงดังรูปที่ 15



	Mangrove±SD	Rice open±SD	Herb±SD	Rice close±SD	Garden±SD
1500-1200 (Deformation of CH2/C-C-H/H-C-O)	0.0076±0.0001	0.0076±0.0001	0.0072±0.0002	0.0074±0.0002	0.0075±0.0001
1200-950 (Sugar region)	0.0585±0.0006	0.0528±0.0009	0.0553±0.0011	0.0530±0.0045	0.0557±0.0032

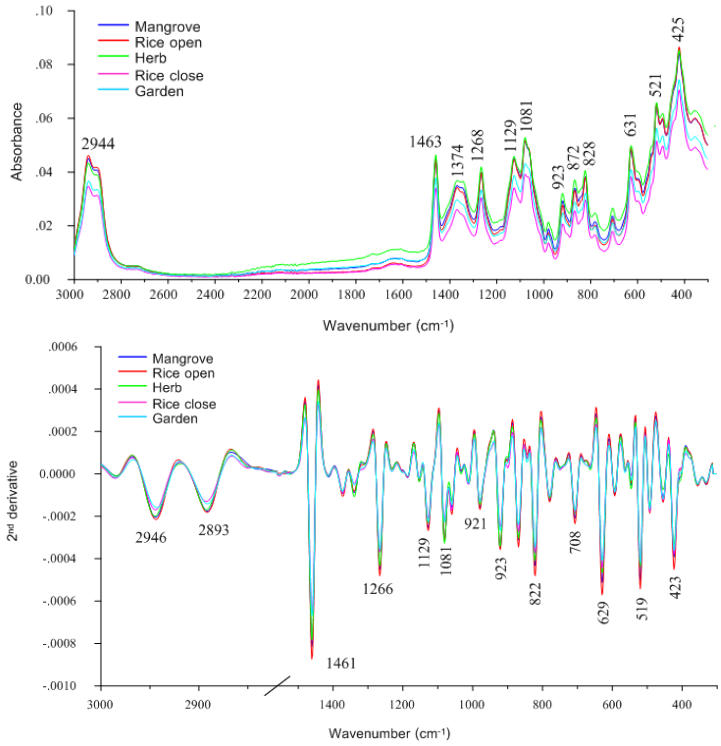
รูปที่ 15 Integral area สเปคตรัมน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ ที่ช่วงความยาวคลื่น 1500-1200 (Deformation of CH2/C-C-H/H-C-O) และ 1200-950 (Sugar region)

จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าที่ช่วงความยาวคลื่น 1500-1200 (Deformation of CH2/C-C-H/H-C-O) และ 1200-950 (Sugar region) สามารถใช้แยกความแตกต่างของน้ำผึ้งชันโรงได้ 3 กลุ่ม a, b และ ab ดังแสดงในกราฟแท่งของรูปที่ 14

4.2 ผลการวิเคราะห์ FT-RAMAN spectroscopy- ของน้ำผึ้งจากต่างๆ

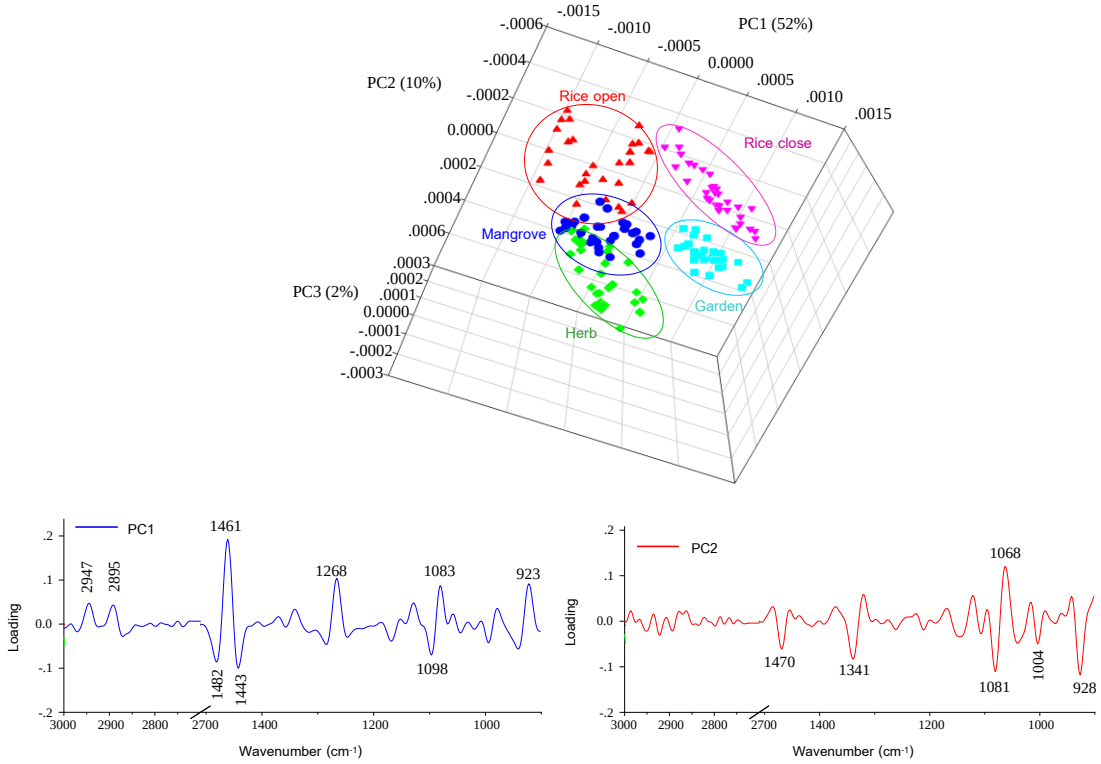
จากการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำผึ้งชันโรงทั้ง 5 ชนิดให้ผลการแยกความแตกต่างด้วย RAMAN-spectroscopy ดังแสดงผลดังรูปที่ 16 และจากการวิเคราะห์ พบว่ามีความสอดคล้องกับข้อมูลจาก FTIR-spectroscopy โดยพีคของสเปคตรัมหลักที่ใช้แยกอยู่ในช่วงความยาวคลื่น 300 – 1500 cm^{-1} สเปกตรัมของน้ำผึ้งชันโรงแต่ละแหล่งที่สัดด้วยเทคนิค FT-RAMAN แสดงในรูปที่ 16 โดยพบว่าสเปกตรัมที่ช่วงความยาวคลื่น 300-1500 cm^{-1} เป็นช่วงพีคหลักที่พบในน้ำผึ้งชันโรงจากทุกแหล่ง โดยที่พีค 300-500 มีความสอดคล้องกับช่วงการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C-C-O และ C- C-C, C-O และ C-C ที่พีค 521 cm^{-1} มีความสอดคล้องกับหมู่ C-C-O และ C-C-C ที่พีค 626 cm^{-1} มีความสอดคล้องกับวงแหวนอะโรมาติก พีคที่ประมาณ 705 cm^{-1}

เกี่ยวข้องกับ stretching C-O และ C-C-O, O-C-O bending พีค 776 cm^{-1} สอดคล้องกับ C-C stretching และการสั่นสะเทือนของหมู่ฟังก์ชัน C-H ในน้ำตาลกลูโคส ที่พีค 867 cm^{-1} และ 825 cm^{-1} เกี่ยวข้องกับการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C-H และ CH_2 และ C-O-H bending พีค 979 cm^{-1} มีความสอดคล้องกับหมู่ฟังก์ชันใน anomers ของน้ำตาล ฟรุคโตสและกลูโคส 1072 cm^{-1} เกี่ยวข้องกับการสั่นของหมู่ฟังก์ชันของคาร์โบไฮเดรต C-H และ C-O-H และยังเกี่ยวข้องกับหมู่ฟังก์ชัน C-N ของพันธะในโปรตีนและกรดอะมิโน โดยที่พีค 1124 0 สอดคล้องกับการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน C-O และ C-O-C และ C-N ของโปรตีนและกรดอะมิโนและที่พีค 1460 เป็นสัญญาณที่รวมกันของการสั่นของหมู่ COO^- bending ของหมู่ CH_2 ซึ่งจะสอดคล้องกับสารกลุ่ม flavonols และ organic acids ต่างๆ



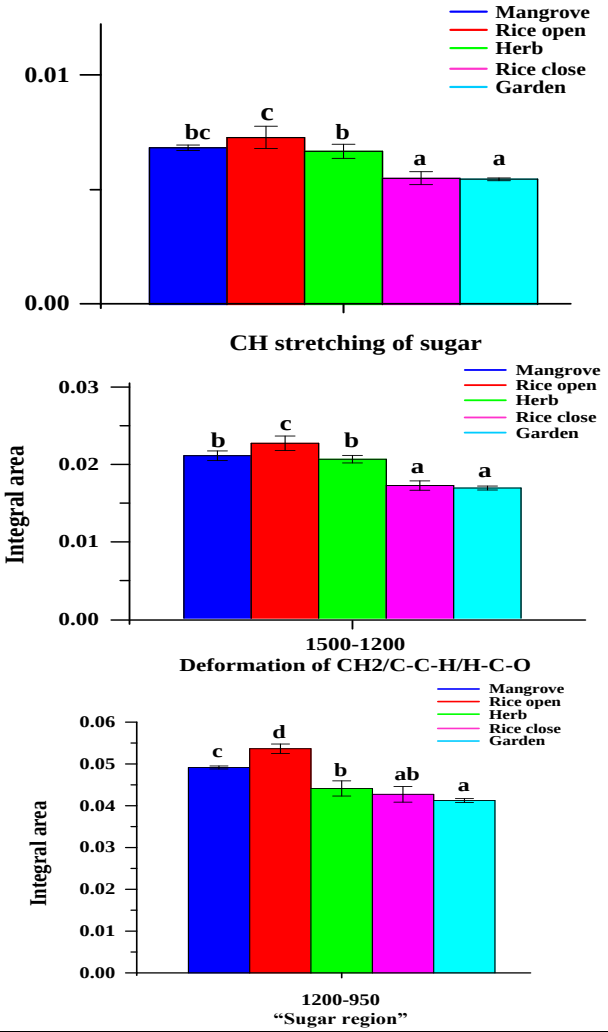
รูปที่ 16 1st และ 2nd spectrum ของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ ด้วย RAMAN-spectroscopy

จากผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำผึ้งโดยใช้ PCA analysis พบว่าน้ำผึ้งจากทั้ง 5 แหล่งมีความแตกต่างกันที่ PC1 (52%) ซึ่งมี loading plot ของ PC1 สูงสุดที่สเปกตรัม 2947, 2895, 1461 cm^{-1}, 1268 cm^{-1} และ 1081 cm^{-1} ซึ่งเป็นช่วง finger print ของน้ำผึ้งที่ประกอบด้วยน้ำตาลและสารประกอบฟีนอลลิก () ที่ใช้แยกความแตกต่างของน้ำผึ้งทั้ง 5 แหล่ง และที่ PC 2 ใช้แยกความแตกต่างระหว่างน้ำผึ้งชันโรงได้ 10% มี loading plot ของ PC 2 ที่ใช้แยกความแตกต่างของน้ำผึ้งที่สเปกตรัม 1068 และ 1081 cm^{-1} ซึ่งเป็นช่วงของน้ำตาลดังแสดงในรูปที่ 17



รูปที่ 17 ผลวิเคราะห์ PCA และ loading plot ของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ ด้วย RAMAN-spectroscopy

จากผลการวิเคราะห์ PCA analysis ด้วย RAMAN spectroscopy พบว่าช่วง CH stretching (3000-2800 cm^{-1}) ซึ่งตรงกับช่วงของ hydroxyl group ของน้ำตาล 2-deoxy D-ribose ช่วง 1200-1500 cm^{-1} เป็นช่วง Deformation of CH2/C-C-H/H-C-O ของ saccharide และ 1200-950 cm^{-1} ของน้ำตาล (Wiercigroch et al. 2017) สามารถใช้ในการแยกชนิดของน้ำผึ้งชันโรงได้ เมื่อทำการวิเคราะห์พื้นที่ใต้กราฟของช่วงต่างๆ (interactive area) ดังแสดงในรูปที่ พบว่า CH stretching (3000-2800 cm^{-1}) และ Deformation of CH2/C-C-H/H-C-O ของ saccharide (1200-1500 cm^{-1}) สามารถแยกน้ำผึ้งแต่ละแหล่งได้เป็น 3 กลุ่ม a, b และ c และที่ช่วงความยาวคลื่นที่ 1200-950 cm^{-1} พบว่าสามารถแยกความแตกต่างของน้ำผึ้งได้ทั้ง 5 แหล่ง ดังแสดงในรูปที่ 18



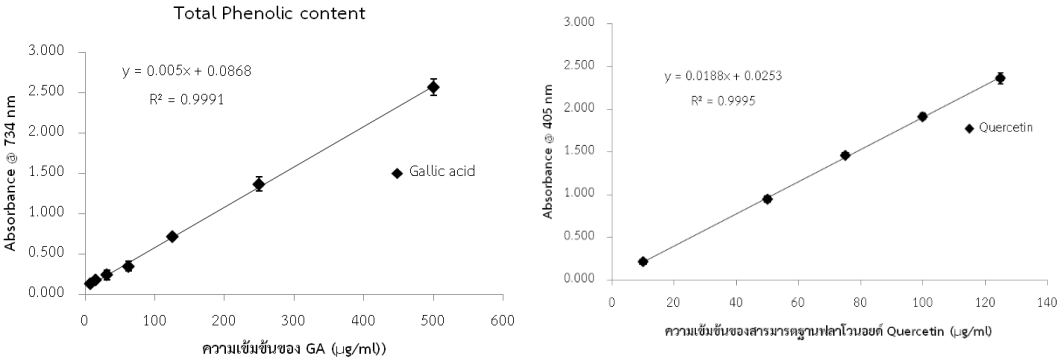
	Mangrove±SD	Rice open±SD	Herb±SD	Rice close±SD	Garden±SD
CH stretching of sugar	0.00682±0.00012^{bc}	0.00727±0.00049^{c}	0.00666±0.00030^{b}	0.00550±0.00029^{a}	0.00545±0.00006^{a}
1500-1200 (Deformation of CH2/C-C-H/H-C-O)	0.02098±0.00061^{b}	0.02260±0.00094^{c}	0.02053±0.00049^{b}	0.01713±0.00061^{a}	0.01682±0.00026^{a}
1200-950 (Sugar region)	0.04916±0.00036^{c}	0.05363±0.00114^{d}	0.04413±0.00181^{b}	0.04273±0.00188^{ab}	0.04124±0.00047^{a}

รูปที่ 18 Integral area สเปคตรัมน้ำผึ้งชันโรงด้วย FT-Raman จากทั้ง 5 แหล่งที่ช่วงความยาวคลื่น 1500-1200 (Deformation of CH2/C-C-H/H-C-O) และ 1200-950 (Sugar region)

จากตารางแสดงปริมาณขององค์ประกอบน้ำผึ้งที่แตกต่างกันจากน้ำผึ้งชันโรงทั้ง 5 แหล่ง โดย finger print ของ RAMAN spectra แสดงพื้นที่ใต้กราฟของน้ำตาลและองค์ประกอบของสารฟลีนอลลิกที่ช่วง CH stretching of sugar, 1200-950 (Sugar region) และ 1500-1200 (Deformation of CH2/C-C-H/H-C-O) ดังตารางที่ใช้ในการแยกความแตกต่างของน้ำผึ้งชันโรงจากทั้ง 5 แหล่ง

5. ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกและฟลาโวนอยด์ในน้ำผึ้ง

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในนน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ แสดงกราฟมาตรฐานของ Gallic acid และ Quercetin ดังรูปที่ 19 พบว่ามีความแตกต่างกันโดยน้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลนมีค่าสารประกอบฟีนอลลิกและฟลาโวนอยด์สูงที่สุด เท่ากับ 2.66±0.13 g GAE/ 100 g Honey และ 0.91±0.01 g QAE/ 100 g Honey ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 5



ภาพที่ 19 กราฟสารละลายมาตรฐานฟลีนอลลิกและฟลาโวนอยด์

ตารางที่ 5 ปริมาณสารประกอบฟลีนอลลิกและฟลาโวนอยด์ในน้ำผึ้งชันนโรงแหล่งต่างๆ

	ปริมาณ Total phenolic content (g GAE/ 100 g Honey)	ปริมาณ Total flavonoid content (g QAE/ 100 g Honey)
น้ำผึ้งป่าชายเลน	2.66±0.13	0.91±0.01
น้ำผึ้งสวนผลไม้	1.16±0.02	0.47±0.02
น้ำผึ้งนาข้าว (ระบบเปิด)	1.13±0.06	0.34±0,01
น้ำผึ้งนาข้าว (ระบบปิด)	1.14±0.03	0.45±0,01
น้ำผึ้งสวนสมุนไพร	1.19 ±0.05	0.46±0.01

6. ผลการทำนายสารประกอบฟลีนอลลิกในน้ำผึ้งด้วยวิธี FTIR spectroscopy และ FT-RAMAN spectroscopy เปรียบเทียบกับวิธี Follin Ciocaltue

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลีนอลลิกในน้ำผึ้งชันโรงพบว่า สารประกอบฟลีนอลลิกมากที่สุดในน้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลน ดังนั้นจึงนำมาทำการวิเคราะห์ทำนายปริมาณสารฟลีนอลลิกในน้ำผึ้ง เพื่อสร้างสมการค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; R) ของสารประกอบฟลีนอลลิกระหว่าง FTIR-spectroscopy (n=50) และ FT-RAMAN spectroscopy (n=50) เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน Follin Ciocaltue (n=50) จากตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรง เพื่อใช้ในการทำนายปริมาณองค์ประกอบสารฟลีนอลลิกใกล้เคียงกับผลที่อ้างอิง และให้ค่าทางสถิติที่ดีแสดงว่า สมการทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีนั้นยอมรับได้ และสามารถนำไปใช้ทำนายปริมาณตัวอย่าง

จากผลการทำนายปริมาณสารประกอบฟลีนอลลิกด้วยวิธี FTIR spectroscopy กับวิธีมาตรฐาน Follin Ciocaltue พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (R^2) สูงที่สุด เท่ากับ 98.75% ค่าผิดพลาดมาตรฐานของการทฺนาย root mean square error (RMSECV) เท่ากับ 0.0833 % ค่า bias เท่ากับ 0.00159 % และค่า RPD เท่ากับ 8.94 ดังแสดงในรูปที่ 20

Calibration curve for the prediction of Total phenolic by FTIR versus Follin Ciocalteu

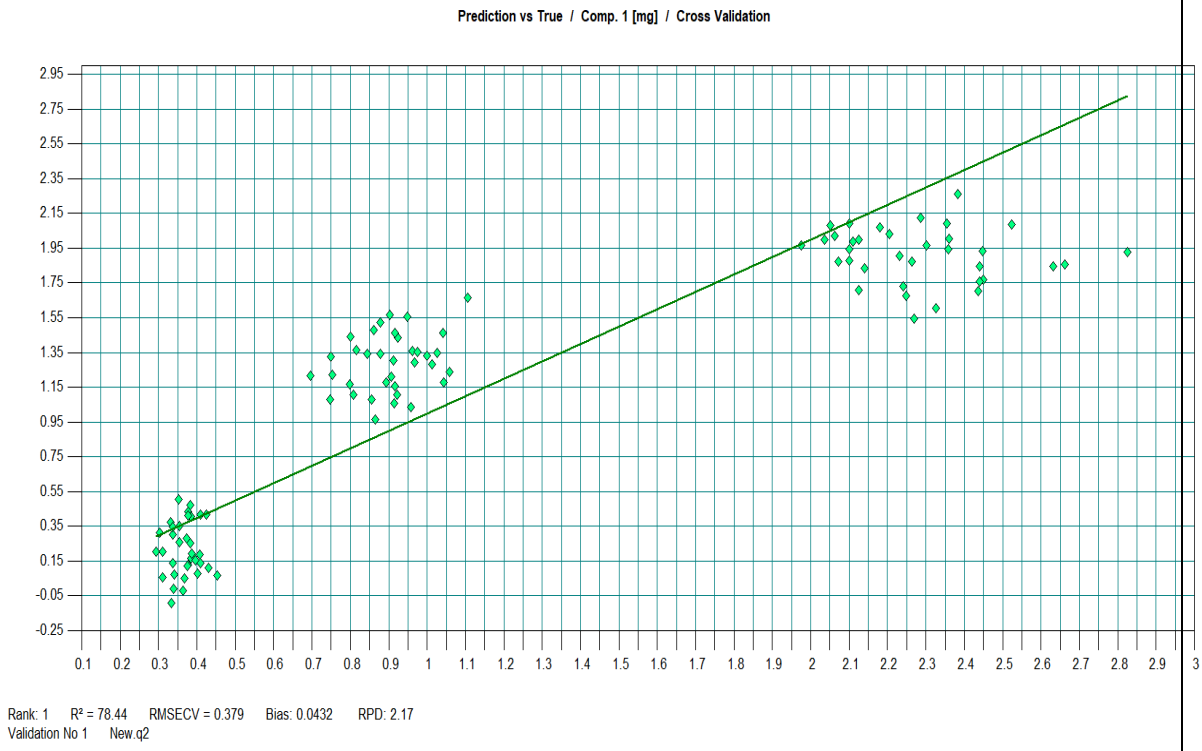
Components	R^2 (%)	RMSECV	bias	RDP
FTIR	98.75	0.0833	0.00159	8.94

รูปที่ 20 ผลการทำนายสารประกอบฟลีนอลลิกด้วยเทคนิค FTIR spectroscopy กับค่าอ้างอิงโดยวิธี Follin Ciocalteu

ซึ่งจากการศึกษาพบว่าเทคนิค FTIR spectroscopy สามารถใช้ในการทำนายปริมาณสารประกอบฟลีนอลลิกได้และให้ผลที่เชื่อถือได้และมีความแม่นยำ และมีความสอดคล้องกับวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลลิกในน้ำผึ้ง

นอกจากนี้ผลการทำนายปริมาณสารประกอบฟลีนอลลิกด้วยวิธี FT-RAMAN spectroscopy กับวิธีมาตรฐาน Follin Ciocaltue พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (R^2) ที่ค่อนข้างต่ำเท่ากับ 78.44% ค่าผิดพลาดมาตรฐานของการทฺนาย (RMSECV) เท่ากับ 0.379 % ค่า bias เท่ากับ 0.0432 % และ ค่า RPD เท่ากับ 2.1 ดังแสดงในรูปที่ 21

Calibration curve for the prediction of Total phenolic by FT Raman versus Follin Ciocalteu

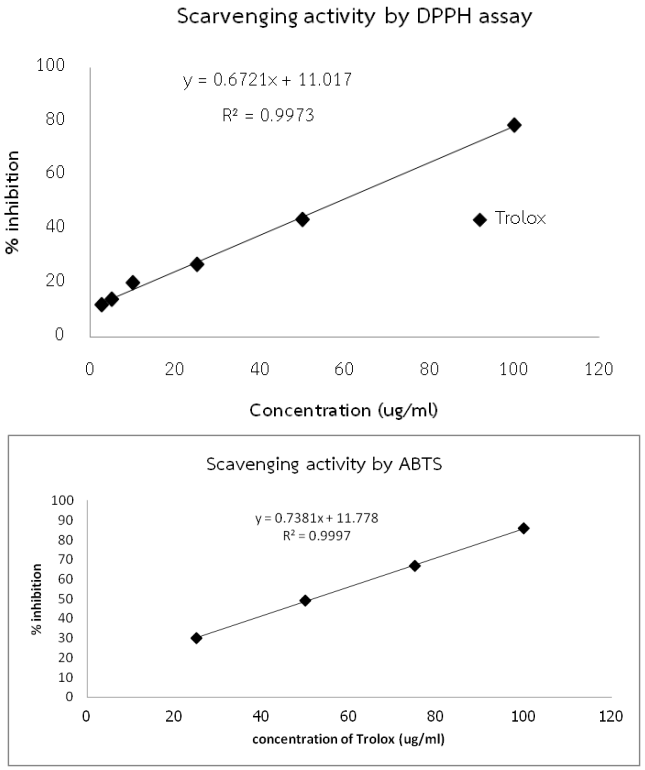


Components	R^2 (%)	RMSECV	bias	RDP
FTRAMAN	78.44	0.379	0.0432	2.17

รูปที่ 21 ผลการทำนายสารประกอบฟลีนอลลิกด้วยเทคนิค FT RAMAN spectroscopy กับค่าอ้างอิงโดยวิธี Follin Ciocalteu

6. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS

เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งชันโรง จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งทั้ง 4 แหล่งพบว่าน้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลนมีความสามารถในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้น 1000 mg/ml ได้มากถึง 87.53±0.9 % และ 86.46±0.3 % เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 6



รูปที่ 22 กราฟการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารละลายมาตรฐานTrolox โดยวิธี DPPH และวิธี ABTS

ตารางที่ 6 การยับยั้งอนุมูลอิสระของสารละลายน้ำผึ้งที่ความเข้มข้น 1000 mg

	% inhibition @ 1000 mg	
	DPPH assay	ABTS assay
น้ำผึ้งป่าชายเลน	87.53±0.9	86.46±0.3
น้ำผึ้งสวนผลไม้	75.88±0.9	80.91±0.8
น้ำผึ้งนาข้าว (ระบบเปิด)	66.64±1.6	86.58±0.4
น้ำผึ้งนาข้าว (ระบบปิด)	87.18±1.5	88.20±0.4
น้ำผึ้งสวนสมุนไพร	81.95±1.6	80.68±0.4

จากผลการศึกษาผู้วิจัยจึงทำการศึกษาหาตำรับที่ใช้พัฒนายาอมเม็ดนิ่มโดยเริ่มพัฒนาจากน้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลนเนื่องจากเป็นน้ำผึ้งที่มีปริมาณมาก และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกและฟลาโวนอยด์สูงที่สุดและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำผึ้งจากแหล่งอื่นๆ โดยผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของลูกอมเม็ดนิ่มเบื้องต้นแสดงดังนี้

7. ลักษณะทางกายภาพของยาอมเม็ดนิ่ม

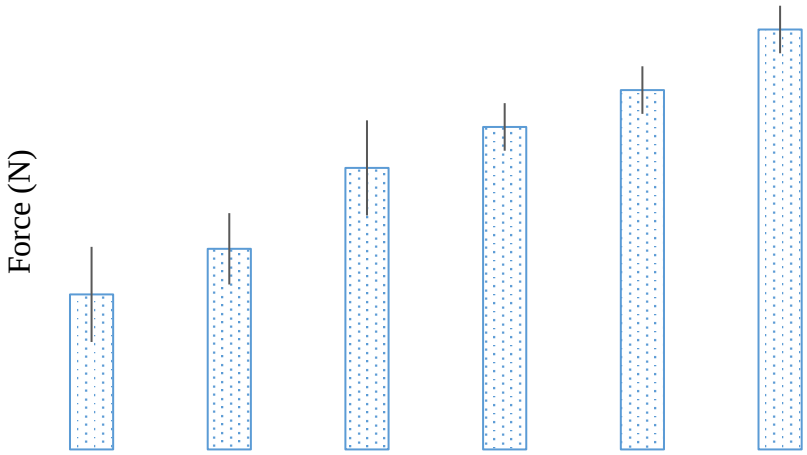
การศึกษาลักษณะทางกายภาพของยาอมเม็ดนิ่ม เป็นยาอมสีน้ำตาล ทรงสี่เหลี่ยม ดังรูป โดยมีความยากง่ายในการแกะออกจากแม่พิมพ์ แตกต่างกันขึ้นกับปริมาณเจลาติน พบว่าสูตร F1-F6 สามารถแกะออกจากแม่พิมพ์ได้ง่ายทำให้ยาอมเม็ดนิ่มไม่สามารถคงรูปร่างได้ F3 มีสีขุ่นมากที่สุดเนื่องจากมีปริมาณทัลคัมมากที่สุด การประเมินน้ำหนักและขนาดของยาอมเม็ดนิ่มพบว่า สูตร F1-F6 มีน้ำหนักและขนาดอยู่ในเกณฑ์ดังแสดงในตาราง 7

ตาราง 7 ลักษณะทางกายภาพของยาอมเม็ดนิ่ม

Formulations	Weight) g)	Size (mm)		
		Width	Length	Thickness
F1	1.0500±0.0305	9.501±0.165	9.403±0.199	9.644±0.356
F2	1.0506±0.0456	9.589±0.130	9.502±0.240	9.342±0.191
F3	1.0768±0.0423	9.500±0.174	9.570±0.220	9.465±0.497
F4	0.9917±0.1029	9.404±0.184	9.570±0.269	9.513±0.248
F5	1.0226±0.0310	9.530±0.255	9.432±0.213	9.419±0.318
F6	1.0562±0.0208	9.495±0.156	9.540±0.218	9.459±0.219

7.1 ความแข็งของยาเม็ดนิ่ม

ความแข็งของยาเม็ดนิ่มเป็นสมบัติสำคัญของยาอมที่ใช้อมหรือเคี้ยวภายในช่องปาก โดยเฉพาะอย่างเด็กและผู้สูงอายุ ยาอมเม็ดนิ่มที่ดีควรคงรูปอยู่ได้แม้อยู่ในช่องปาก และไม่แข็งเกินไปจนไม่สามารถกัดได้ การประเมินเนื้อสัมผัสยาอมโดยใช้ Texture analyzer พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณเจลาติน จะทำให้ความแข็งของเม็ดยาเพิ่มมากขึ้น สูตร F6 การเติมทัลคัมและ HPMC ลงในตำรับพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณทัลคัมยาอมจะมีความแข็งมากขึ้นและเมื่อเพิ่มปริมาณ HPMC มากขึ้น จะส่งผลให้มีความแข็งมากขึ้น (ภาพที่ 23)



รูปที่ 23 กราฟความแข็งของยาเม็ดนิ่ม

7.2 การทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในลูกอมเม็ดนิ่มพบว่าลูกอมเม็ดนิ่ม

จากการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในลูกอมเม็ดนิ่มพบว่าลูกอมเม็ดนิ่มมีปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกเท่ากับ 2.68 ± 0.1 g GAE/ 100 g น้ำผึ้ง และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าน้ำผึ้งชันโรงที่ความเข้มข้น 500 mg ลูกอมเม็ดนิ่มสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระได้ถึง 98.87% และ 95.05 % เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS ตามลำดับ

ตารางที่ 8 สารประกอบฟีนอลลิกและสรประกอบฟลาโวนอยด์ในผลิตภัณฑ์ลูกอมเม็ดนิ่ม

ตัวอย่าง	ปริมาณ Total phenolic content (g GAE/ 100 g Honey)	ปริมาณ Total flavonoid content (g QAE/ 100 g Honey)
ลูกอมเม็ดนิ่ม	2.68 ± 0.1	0.68 ± 0.01

ตารางที่ 9 ฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ลูกอมเม็ดนิ่ม

ตัวอย่าง	% Inhibition	
	DPPH assay	ABTS assay
ลูกอมเม็ดนิ่ม 500 mg/ml	88.87 ± 9.8	89.05 ± 11.2

บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

ในปัจจุบันน้ำผึ้งชันโรงสายพันธุ์ *Tetragonula pagdeni* หรือ ชันโรงขนเงิน แป็นสายพันธุ์ที่มีการเพาะเลี้ยงในเชิงการค้าแล้วในประเทศไทยเพื่อใช้ในการผสมเกสร เนื่องจากชันโรงจัดเป็นแมลงจำพวกผึ้งที่ไม่มีเหล็กใน อยู่ใน Subfamily Meliponinae, Family Apidae, Order Hymenoptera เป็นแมลงผสมเกสรที่มีประสิทธิภาพ ช่วยเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร ให้กับพืชมากมายหลายชนิด (Heard, 1999; Theanworrakan et al., สมนึก บุญเกิด. 2541) นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านการผสมเกสรในระบบนิเวศทางการเกษตร และป่าไม้ได้เป็นอย่างดี ชันโรงมีพฤติกรรมที่ชอบเก็บเกสรมากกว่าน้ำหวาน ชันโรงจะเก็บเกสรร้อยละ 80 และน้ำหวานร้อยละ 20 และระยะทางในการออกหากินไม่ไกลจากรังที่อยู่อาศัยประมาณ 50-300 เมตร มีปัญหาเรื่องของศัตรูและโรคระบาดน้อย รังมีขนาดไม่ใหญ่ ทำให้การบริหารจัดการรังทำได้ง่าย (Michener, 2000; สมนึก บุญเกิด และ ธนานิธ เสือวรรณศรีม 2544)

1) การเก็บน้ำผึ้งชันโรง (*T. pagdeni*) ระบบเปิดละระบบปิด

จากผลการศึกษาการเก็บน้ำผึ้งชันโรง *Tetragonula pagdeni* ในระบบเปิดพบว่าปริมาณน้ำผึ้งจากสวนผลไม้ให้ผลผลิตต่อรังมากที่สุดถึงประมาณ 700 มิลลิลิตรต่อรัง ตามด้วยน้ำผึ้งจากป่าชายเลน (300-500 มิลลิลิตรต่อรัง) และนาข้าว (< 100 มิลิลิตรต่อรัง) ตามลำดับ ทั้งนี้ปริมาณและคุณภาพของน้ำผึ้งที่ได้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม และฤดูกาลการออกดอกของต้นไม้ในบริเวณที่ทำการเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรง นอกจากนี้คณะผู้วิจัยพบว่าฤดูกาลส่งผลต่อคุณภาพและการเก็บตัวอย่างน้ำผึ้งชันโร ซึ่งเป็นผลมาจากอุณหภูมิ ความชื้นและสภาพอากาศส่งผลต่อผึ้งชันโรงและน้ำผึ้งที่เก็บ ((Issaro et al., 2014 และ Machana et al., 2014) ดังนั้นการพัฒนาโรงเลี้ยงระบบปิดเพื่อควบคุมปัจจัยแวดล้อมต่างๆ และศึกษาคุณภาพ รวมถึงประสิทธิภาพของน้ำผึ้งจากผึ้งชันโรง นอกจากนี้ประสิทธิภาพของการช่วยผสมเกสรเพื่อเพิ่มผลผลิตในนาข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1จากผึ้งชันโรงเปรียบเทียบกับการผลผลิตในนาข้าวควรมีการทำการศึกษาต่อไป โดยมีรายงานก่อนนี้พบว่าผึ้งชันโรงมีประสิทธิภาพในการผสมเกสรและเพิ่มผลผลิตมะระจีนใน สภาพไร่ได้ดี โดยจากศึกษาพบว่า ชันโรงสามารถทำให้ผลผลิตต่อไร่ของมะระจีนเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนรังต่อไร่เพิ่มมากขึ้น และน้ำหนักของผลผลิตต่อไร่เพิ่มขึ้นสูงถึง161.46 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่ไม่มีการวางรังชันโรงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามจากการศึกษานี้ไม่ได้มุ่งเน้นทำการสึกษาประสิทธิภาพการผสมเกสรของผึ้งชันโรง แต่จากการเปรียบเทียบลักษณะของน้ำผึ้งชันโรงระบบปิดและระบบเปิด พบว่าน้ำผึ้งที่ได้มีความใส กลิ่น และรสชาติที่แตกต่างกัน อย่างเห็นได้ชัด จากลักษณะทางกายภาพอื่นที่สังเกตได้ เช่น สีของน้ำผึ้ง แสดงดังรูปที่ 8 น้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลน สวนผลไม้ มีสีน้ำตาล และน้ำผึ้งชันโรงจากสวนสมุนไพร นาข้าวระบบเปิด และระบบปิดมีสีเหลืองอ่อน โดยสีของน้ำผึ้งชันโรงจากนาปิดมีความใสและหอมหวาน รสชาติดีกว่าน้ำผึ้งชันโรงอื่น ซึ่งจาก

การศึกษาของ Mohamed และคณะ (2018) พบว่าสีของน้ำผึ้งนั้นมีความสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลลิกในน้ำผึ้งอีกด้วย โดยการศึกษาครั้งนี้สนใจความแตกต่างของน้ำผึ้งชันโรงที่เก็บจากแหล่งต่างๆ รวมถึงการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งระบบเปิดจากแหล่งต่างๆ และน้ำผึ้งจากระบบปิด รวมถึงการพัฒนาน้ำผึ้งจากแหล่งที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในการพัฒนาเป็นยาอมเม็ดนิ่ม

2) การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีบางประการของน้ำผึ้งชันโรง

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารไฮดรอกซีเมททิลเฟอร์ฟิวรัล (Hydroxymethylfurfural; HMF) และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลด้วยเทคนิค HPLC

ในการศึกษาเกิดเมแทบอไลท์ของสารสำคัญตามชนิดของต้นไม้ที่ทำการเลี้ยงชันโรงรวมถึงลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้ง โดยน้ำผึ้งจะมีสีเข้มมากขึ้นเมื่อเก็บไว้ระยะหนึ่ง ทั้งนี้เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดซึ่งเป็นปฏิกิริยาระหว่างหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนกับหมู่คาร์บอนิลของน้ำตาล ปฏิกิริยานี้ให้สารผลิตภัณฑ์มากมายหลายชนิด โดย สาร 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (HMF) จัดเป็นสารพิษชนิดหนึ่ง ซึ่ง HMF จะทำให้น้ำผึ้งมีสีดำคล้ำและยังมีรายงานว่า HMF เป็นสารก่อมะเร็งอีกด้วย (Chuttong et al. 2016) ปริมาณของ HMF ถูกใช้ในการกำหนดคุณภาพของน้ำผึ้งในต่างประเทศ โดยปริมาณสาร HMF ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช. ๒๖๓/๒๕๔๗) น้ำผึ้งกำหนดให้มีได้ ไม่เกิน 80 mg/kg จากการศึกษานี้พบว่าตัวอย่างผึ้งชันโรงขนเงินจากแหล่งต่างๆ มีปริมาณสาร HMF ในน้ำผึ้งชันโรงที่ทำการวิเคราะห์ด้วยด้วยเทคนิค HPLC จากแหล่งต่างๆ ได้แก่ ป่าชายเลน, สวนผลไม้, นาข้าวระบบเปิด และนาข้าวระบบปิด มีค่าเป็น 3.8 ±0.01 mg/kg, 2.4 ± 0.20 mg/kg, 0.35 ± 0.06 mg/kg และ0.12 ± 0.01 mg/kg ซึ่งไม่เกินมาตรฐานกำหนด ทั้งนี้ควรทำการวิเคราะห์เพิ่มเติม โดยควรทำการศึกษาเมื่อเก็บรักษาน้ำผึ้งที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3, 6 และ 12 เดือน ซึ่งเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการศึกษามากกว่า ดังการศึกษาก่อนนี้ของ อาทิตย์ กัณฐัศว์กำพล และคณะ (2554) พบว่าปริมาณสาร HMF เพิ่มตามระยะเวลาที่ให้ความร้อนแก่น้ำผึ้งอย่างชัดเจน และผลของปัจจัยระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำผึ้งที่มีต่อปริมาณสารประกอบ HMF เมื่อเก็บน้ำผึ้งนาน 24 เดือน จะมีปริมาณ HMF สูงถึงประมาณ 50 mg/kg ดังนั้นจากการศึกษานี้จึงยังไม่สามารถสรุประยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำผึ้งชันโรงได้ แต่จากการศึกษาเมื่อเทียบกับการศึกษาก่อนนี้พบว่า น้ำผึ้งจากนาข้าวระบบปิดมีปริมาณสาร HMF ต่ำกว่าน้ำผึ้งจากนาข้าวระบบเปิด สวนผลไม้และป่าชายเลนตามลำดับ ซึ่งเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการเก็บรักษาของน้ำผึ้งที่เลี้ยงในระบบปิดเปรียบเทียบกับระบบเปิดต่อไป

นอกจากนี้การศึกษานี้ยังทำการวิเคราะห์หาสารประกอบน้ำตาลมาตรฐานกลูโคลส ฟรุกโตส มอลโทส ในน้ำผึ้งชันโรงแหล่งต่างๆ โดยจากการศึกษาพบว่าน้ำผึ้งอยู่ในปริมาณตามเกณฑ์มาตรฐาน โดยมี

เพียงน้ำผึ้งจากนาข้าวระบบเปิดที่มีปริมาณกลูโคสที่สูงเล็กน้อย นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำผึ้งชันโรงไม่มีปริมาณน้ำตาลซูโครสเป็นส่วนประกอบ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาองค์ประกอบของน้ำตาลในน้ำผึ้งชันโรงก่อนนี้ของ Chuttong et al. 2016 อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาของ Chuttong et al. 2016 ยังพบรายงานน้ำผึ้งชันโรงมีปริมาณของน้ำตาลมอลโตสที่สูง ซึ่งแตกต่างจากการศึกษานี้ที่พบปริมาณน้ำตาลมอลโตสเพียง 1.81-2.35% ทั้งนี้อาจเกิดจากความแตกต่างของน้ำผึ้งที่เลี้ยงในแต่ละแหล่งมีความแตกต่างกัน โดยปริมาณน้ำตาลมอลโตสที่พบในน้ำผึ้งชันโรงที่เลี้ยงในระบบเปิดและระบบปิดมีค่าไม่เกินน้ำผึ้งมาตรฐานที่กำหนด

2.2. ผลการวิเคราะห์ FTIR- finger print ของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ

จาก FTIR-finger print ของนำผึ้งที่ทำการเก็บจากแต่ละแหล่งพบว่ามีความแตกต่างกัน โดยจากผลการวิเคราะห์ PCA ของน้ำผึ้งทั้งหมด 150 สเปกตรัม น้ำผึ้งชันโรงทั้งหมด 5 แหล่ง จากผลการวิเคราะห์ FTIR spectroscopy พบว่าหมู่ฟังก์ชั่นของน้ำตาลที่ 1024, 1074, 1151, 1033 และ1091 cm^{-1} ใช้แยกความแตกต่างของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆ ได้ ดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์ integration area ของสเปตรัมทั้ง 2 ช่วงคลื่นที่ช่วงความยาวคลื่น 1500-1200 cm^{-1} (Deformation of CH2/C-C-H/H-C-O) และ 1200-950 cm^{-1} (Sugar region) สามารถใช้แยกความแตกต่างของน้ำผึ้งทั้ง 5 ชนิดได้โดยที่ PC 1 สามารถแยกความแตกต่างของน้ำผึ้งได้ถึง 58% ด้วยเทคนิค FTIR spectroscopy พบว่าสเปกตรัมของน้ำตาลในแต่ละแหล่งมีความแตกต่างกันที่ช่วงความยาวคลื่น 1200-950 cm^{-1} น้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลน (0.0585±0.0006) สวนผลไม้ (0.0557±0.0032) สวนสมุนไพร (0.0553±0.0011) นาข้าวระบบปิด (0.0530±0.0045) และนาข้าวระบบเปิด (0.0528±0.0009) ตามลำดับ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับปริมาณน้ำผึ้งจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC อย่างไรก็ตามจากการศึกษาครั้งนี้มุ่งทำการประยุกต์ใช้เทคนิก FTIR spectroscopy ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิก ซึ่งการวิเคราะห์น้ำตาลและคุณภาพทางกายภาพ ทั้งความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง และค่าของน้ำผึ้ง

ผลการวิเคราะห์ด้วย RAMAN-spectroscopy พบว่าที่ PC 1 สามารถแยกความแตกต่างของน้ำผึ้งได้ถึง 52% โดย finger print ของ RAMAN spectra แสดงพื้นที่ใต้กราฟของน้ำตาลและองค์ประกอบของสารฟีนอลลิกที่ช่วง CH stretching of sugar, 1200-950 (Sugar region) และ 1500-1200 (Deformation of CH2/C-C-H/H-C-O) สามารถใช้ในการแยกชนิดของน้ำผึ้งจากแหล่งต่างๆได้ ตั้งแต่ PC 1 ซึ่งจากทั้ง 2 เทคนิกหากทำการเก็บข้อมูลที่มากพอจะสามารถสร้างเป็น finger print มาตรฐานของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆได้ และจากการวิจัยก่อนนี้มีการนำเทคนิกอินฟราเรดมาใช้ในการตรวจสอบคุณภาพและหาสารปนเปื้อน หรือปลอมปนในน้ำผึ้งได้ ทั้งนี้จากการศึกษา FTIR spectroscopy ควรทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณน้ำตาลด้วยเทคนิกดังกล่าว เพื่อวิเคราะห์ PLS regression ของเทคนิกทั้งสอง ซึ่งจากการศึกษาก่อนนี้ของ

Wang et al., 2010 รายงานการใช้เทคนิก FTIR ในการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิดในน้ำผึ้งได้อย่างรวดเร็วและไม่ซับซ้อนในการวิเคราะห์ ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าวิธีดังกล่าวจะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการวิเคราะห์ปริมาณตาลและองค์ประกอบต่างๆในน้ำผึ้งได้อย่างรวดเร็ว ง่าย และประหยัดเวลาในการวิเคราะห์

ทั้งนี้จากสเปกตรัมดังกล่าวผู้วิจัยได้เน้นทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลีนอลลิก ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งซึ่งจะอธิบายต่อไปในหัวข้อการประยุกต์ใช้เทคนิก FTIR spectroscopy และ FT-RAMAN spectroscopy ในการทำนายสารประกอบฟลีนอลลิกในน้ำผึ้งต่อไป

2.3. ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS ในน้ำผึ้ง

จากผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกในน้ำผึ้งทั้ง 5 แหล่งพบว่า น้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆมีปริมาณสารปรกอบฟีนอลลิกอยู่ที่ 1.13-2.66 g GAE/ 100 g น้ำผึ้ง โดยน้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกมากที่สุดเท่ากับ 2.66±0.13 g GAE/ 100 g ของน้ำผึ้ง และมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุดเท่ากับ 0.91±0.01 g QAE/ 100 g ของน้ำผึ้ง โดยน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งต่างๆมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกันที่ 0.34-0.91 g QAE/ 100 g ของน้ำผึ้ง ซึ่งพบว่าในน้ำผึ้งชันโรงครั้งนี้มีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกและฟลาโวนอยด์สูงกว่าน้ำผึ้งชันโรงจากมาเลเซียถึง 10 เท่า โดยจากการศึกษาก่อนนี้ในน้ำผึ้งชันโรงจากประเทศมาเลเซียพบว่ามีสารประกอบฟีนอลลิกเท่ากับ 0.235 g GAE/100 g ของน้ำผึ้งและสารประกอบฟลาโวนอยด์เท่ากับ 0.097 g QAE/ 100 g (Ranneh et al., 2018; Kek et al. 2014) ทั้งนี้อาจเกิดจากแหล่งอาหารของผึ้งชันโรงที่ทำการศึกษามีความอุดมสมบูรณ์ด้วยต้นไม้ที่มีองค์ประกอบของสารฟีนอลลิกละฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกัน และจากการศึกษาครั้งนี้ยังให้ผลสอดคล้องกับสีความเข้มของน้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลนที่มีความเข้มกว่าน้ำผึ้งสวนสมุนไพรและนาข้าว จึงมีสารประกอบฟีนอลลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าน้ำผึ้งชนิดอื่น ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Mohamed et al. (2018) อย่างไรก็ตามควรทำการศึกษาองค์ประกอบของสารฟีนอลลิกและฟลาโวนอยด์ด้วยเคนิคอื่นๆ เช่น HPLC, LC-MS-MS ต่อไปเพื่อหาสารประกอบหลักในน้ำผึ้งชันโรงในแต่ละแหล่ง นอกจากนี้องค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลลิก ฟลาโวนอยด์ ในน้ำผึ้งชันโรงยังให้ผลสอดคล้องกับฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้น 1000 mg ของน้ำผึ้งป่าชายเลน สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้มากถึง 87.53±0.9% (DPPH assy) และ 86.46±0.3% (ABTS assy) โดยมีค่าการยับนั้งอนุมูลอิสระไม่ต่างจากน้ำผึ้งนาข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งนี้ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งจากแหล่งต่างๆ ที่ความเข้มข้น 1000 mg เมื่อทำการทดสลองด้วยวิธี DPPH มีเปอร์เซนต์การยับยั้งอนุมูลอิระอยู่ที่ 75.88 -87.53 % และ เมื่อทำการทดสลองด้วยวิธี ABTS มีเปอร์เซนต์การยับยั้งอนุมูลอิสระอยู่ที่ 80.68-88.20% ดังแสดงในตารางที่ 6 โดยความสัมพันธ์ระหว่างการยับยั้งอนุมูลอิสระแปรผันตรง

กับปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกและฟลาโวนอยด์ที่พบในน้ำผึ้งชันโรงเช่นเดียวกับการศึกษาก่อนนี้ (Guerrini et al. 2009; Kek et al. 2014)

โดยเมื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติระหว่างน้ำผึ้งชันโรงระบบปิดและระบบเปิดพบว่าน้ำผึ้งในระบบปิดมีสารประกอบฟีนอลลิกที่ไม่แตกต่างกัน แต่มีปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกันโดยน้ำผึ้งนาข้าวระบบปิดมีฟลาโวนอยด์ที่ 0.45 g QAE/ 100 g และน้ำผึ้งนาข้าวระบบปิด ที่ 0.34±0.01 g QAE/ 100 g ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และยังพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งในระบบปิดมีค่าสูงกว่าน้ำผึ้งชันโรงที่เลี้ยงในระบบเปิด ทั้งนี้อาจเกิดจากสภาพแวดล้องของแหล่งเลี้ยงผึ้งและการเลี้ยงผึ้งชันโรงในโรงเลี้ยงระบบปิดยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงไม่ต่างจากน้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลน ซึ่งเป็นที่น่าสังเกตและทำการศึกษาต่อไปในน้ำผึ้งชันโรงระบบปิด ในพืชหลายๆ ชนิด เนื่องจากรสชาตินำ้ผึ้งมีรสชาติที่หอมหวานจากข้าวพันธุ์หอมปทุมธานี และจะเป็นแนวทางในการศึกษาในโรงเลี้ยงระบบปิดของพืชชนิดอื่นๆ ต่อไป

3) การประยุกต์ใช้เทคนิก FTIR spectroscopy และ FT-RAMAN spectroscopy ในการทำนายสารประกอบฟลีนอลลิกในน้ำผึ้งด้วยวิธี เปรียบเทียบกับวิธี Follin Ciocaltue

คณะผู้วิจัยจึงทำการวิเคราะห์ FTIR-spectroscopy และ RAMAN-spectroscopy ซ้ำและเพิ่มจำนวนตัวอย่างจากเดิม n= 30 เป็น n=50 เพื่อสร้างความสัมพันธ์ระหว่างวิธีทดสอบสารประกอบฟีนอลลิกกับเทคนิค FTIR-spectroscopy และ RAMAN-spectroscopy เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลีนอลลิกในน้ำผึ้งชันโรงด้วยวิธี FTIR-spectroscopy และ RAMAN-spectroscopy ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้สารปริมาณน้อย ไม่ทำลายสารตัวอย่าง ไม่ต้องเตรียมสารเพื่อทำการทดสอบ ลดความซับซ้อนในการวิเคราะห์ และจากการศึกษาก่อนนี้พบว่าเทคนิคดังกล่าวมีความไวในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบน้ำตาลและฟลีนอลลิกในน้ำผึ้งและน้ำผลไม้ นอกจากนี้หากผลการทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกับผลที่อ้างอิง และให้ค่าทางสถิติที่ดีแสดงว่า สมการทำนายปริมาณองค์ประกอบทางเคมีนั้นยอมรับได้ และสามารถนำไปใช้ทำนายปริมาณตัวอย่าง ต่อไปได้อย่างถูกต้อง (อนุพันธ์, 2545) โดยคณะผู้วิจัยทำการศึกษาเพื่อสร้างสมการค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient; R) ของสารประกอบฟลีนอลลิกระหว่างวิธี Folin Ciocalteu กับเทคนิค FTIR-spectroscopy และ RAMAN-spectroscopy จากตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลนเนื่องจากน้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลนมีปริมาณสารประกอบฟลีนอลิกและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีปริมาณสารประกอบฟลีนอลิกสูงถึง 2.66 gGAE/ 100 g น้ำผึ้ง และมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงถึง 0.99 g QAE/ 100 g น้ำผึ้ง และมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้น 1000 mg สูงถึง 87.53±0.95% และ 86.46±0.3% ด้วยวิธี DPPH และ ABTS ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทำนายปริมาณ

สารประกอบฟลีนอลลิกด้วยวิธี FTIR spectroscopy กับวิธีมาตรฐาน Follin Ciocaltue พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (R^2) สูงที่สุด เท่ากับ 98.75% ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างวิธีทั้งสองมีความสัมพันธ์กันค่อนข้างสูง ค่าผิดพลาดมาตรฐานของการทฺนาย (RMSECV) เท่ากับ 0.0833 % ค่า bias เท่ากับ 0.00159 % และ ค่า RPD เท่ากับ 8.94 และจากผลการทำนายปริมาณสารประกอบฟลีนอลลิกด้วยวิธี FT-RAMAN spectroscopy กับวิธีมาตรฐาน Follin Ciocaltue พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (R^2) ที่ค่อนข้างต่ำเท่ากับ 78.44% ค่าผิดพลาดมาตรฐานของการทฺนาย (RMSECV) เท่ากับ 0.379 % ค่า bias เท่ากับ 0.0432 % และ ค่า RPD เท่ากับ 2.1 อย่างไรก็ตามค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ระหว่าง FT-RAMAN spectroscopy กับวิธีมาตรฐาน Follin Ciocaltue อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้แสดง ทั้งนี้อาจเกิดจากจำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ และควรเพิ่มจำนวนซ้ำและจำนวนตัวอย่างในการวิเคราะห์เพิ่มเป็น 100 ตัวอย่างเพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือ

จากผลการศึกษาการประยุกต์ใช้เทคนิค FTIR spectroscopy และ FT-RAMAN spectroscopy ในการทำนายสารประกอบฟีนอลลิกในน้ำผึ้งด้วยวิธี เปรียบเทียบกับวิธี Follin Ciocaltue พบว่าที่จำนวนตัวอย่าง 50 ตัวอย่าง เทคนิค FTIR spectroscopy มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์กับวิธีมาตรฐาน Follin Ciocaltue เท่ากับ 98.75% ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างวิธีทั้งสองมีความสัมพันธ์กันค่อนข้างสูง ซึ่งมากกว่าความสัมพันธ์ของวิธี RAMAN spectroscopy อย่างไรก็ตามมีรายงานการวิจัยที่ประยุกต์ใช้เทคนิค FTIR spectroscopy และ FT-RAMAN spectroscopy ในการวิเคราะห์ความชื้น ปริมาณน้ำตาล HMF, pH, electrical conductivity, ash, TSS (Brix°), และ redox potential จากน้ำผึ้ง (Anguebes et al., 2016: RaJalakshmi et al., 2017) ซึ่งการวิเคราะห์ดังกล่าวช่วยประหยัดเวลาสารเคมี ขั้นตอนและปริมาณน้ำผึ้งที่ใช้ในการวิเคราะห์ได้ต่อไป

4. การพัฒนายาอมเม็ดนิ่มจากน้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลน

นอกจากผลดังกล่าวคณะวิจัยได้ทำการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพเพื่อพัฒนาตำรับที่เหมาะสมในทำยาอมเม็ดนิ่ม จากผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของยาอมเม็ดนิ่มจากน้ำผึ้งชันโรงจากป่าชายเลนพบว่ายาอมมีลักษณะเป็นยาอมสีน้ำตาล ทรงสี่เหลี่ยม ความยากง่ายในการแกะออกจากแม่พิมพ์ แตกต่างกันขึ้นกับปริมาณเจลาติน โดยพบว่าสูตร F1-F6 สามารถแกะออกจากแม่พิมพ์ได้ง่ายทำให้ยาอมเม็ดนิ่มไม่สามารถคงรูปร่างได้ F3 มีสีขุ่นมากที่สุดเนื่องจากมีปริมาณทัลคัมมากที่สุด การประเมินน้ำหนักและขนาดของยาอมเม็ดนิ่มพบว่า สูตร F1-F6 มีน้ำหนักและขนาดอยู่ในเกณฑ์ และจากการประเมินเนื้อสัมผัสยาอมโดยใช้ Texture analyzer พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณเจลาติน จะทำให้ความแข็งของเม็ดยาเพิ่มมากขึ้น สูตร F6 การเติมทัลคัมและ HPMC ลงในตำรับพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณทัลคัมยาอมจะมีความแข็งมากขึ้นและเมื่อเพิ่มปริมาณ HPMC มาก

ขึ้น จะส่งผลให้มีความแข็งมากขึ้น และลูกอมเม็ดนิ่มจากน้ำผึ้งชันโรงป่าชายเลนมีปริมาณสารประกอบฟลีนอลิกใกล้เคียงกับในน้ำผึ้งป่าชายเลน เท่ากับ 2.68 ± 0.1 g GAE/ 100 g ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 0.68 ± 0.01g QAE/ 100 g ของน้ำผึ้ง และยังมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระที่ 500 mg สูงถึง 88.87 ± 9.8%และ 89.05 ± 11.2% ด้วยวิธี DPPH และ ABTS ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเกิดจากส่วนประกอบในลูกอมเม็ดนิ่มช่วยเสริมฤทธิ์ให้ลูกอมเม็ดนิ่มมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้น

ซึ่งทางคณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าจะทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพของทั้งน้ำผึ้งชันโรงที่ได้จากแหล่งต่างๆ ในระบบเปิดและระบบปิดตามมาตรฐานน้ำผึ้ง และได้วิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR spectroscopy และ FT-RAMAN spectroscopy รวมถึงผลิตภัณฑ์ยาอมเม็ดนิ่มจากน้ำผึ้งชันโรงที่มีคุณภาพและเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบสู่ชุมชนต่อไป อีกทั้งจะนำมาสู่การอนุรักษ์การเลี้ยงชันโรงในธรรมชาติเพื่อช่วยผสมเกสรต้นไม้ของเกษตรกร เพื่อลดการใช้สารเคมีและเป็นวิจัยสู่การอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติของประเทศอย่างยั่งยืนต่อไป

บทที่ 5

สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัย

จากผลการศึกษาการศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้งชันโรงในแหล่งต่างๆและการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ คณะผู้วิจัยพบว่าน้ำผึ้งชันโรงที่เลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันมีผลต่อคุณลักษณะทางกายภาพของน้ำผึ้งที่ต่างกันทั้งรสชาติ สี และปริมาณน้ำตาล ที่พบในน้ำผึ้ง โดยน้ำผึ้งชันโรงเมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือนพบว่ามีปริมาณของสาร HMF ที่ไม่เกินมาตรฐาน แต่ทั้งนี้ยังไม่สามารถสรุปสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาน้ำผึ้งได้ อีกทั้งสภาพแวดล้อมที่ทำการเลี้ยงผึ้งชันรงยังส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกและฟลาโวนอยด์ในน้ำผึ้งชันโรงด้วย โดยพบว่าน้ำผึ้งชันโรงที่เลี้ยงในป่าชายเลนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกและฟลาโวนอยด์ที่สูงที่สุด เมื่อทำการเปรียบเทียบคุณภาพระหว่างน้ำผึ้งชันโรงที่เลี้ยงในโรงปิดและโรงเลี้ยงแบบปิดยังพบว่ามีองค์ประกอบที่แตกต่างกันทั้งปริมาณน้ำตาลสารประกอบฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และการพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาอมเม็ดนิ่มจากน้ำผึ้งชันโรงพบว่าช่วยเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งชันโรงได้มากขึ้น

นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้ยังสามารถประยุกต์ใช้เทคนิค FTIR spectroscopy และ RAMAN spectroscopy ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลลิกในน้ำผึ้งได้ โดยเทคนิคทั้งสองมีความสัมพันธ์กับวิธี Follin Ciocaltue ที่ R^2 เท่ากับ 98.71 % และ 78. % ตามลำดับ ซึ่งเป็นที่ค่อนข้างสูง และสามารถสรุปได้ว่าสามารถใช้เทคนิค FTIR spectroscopy ในการวิเคราะห์สารฟีนอลลิกในน้ำผึ้งได้ โดยเทคนิคดังกล่าวช่วยประหยัดสารเคมี ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและใช้สามารปริมาณน้อย กว่าวิธีมาตรฐานทั่วไป อีกทั้งปัจจุบันยังพบว่าจากข้อมูลของสเปกตรัมที่ทำการวัดสามารถใช้ในการทำนายปริมาณสารปลอมปนในน้ำผึ้ง ปริมาณน้ำตาล ความชื้น ความเป็นกรด-เบส สาร HMF, electrical conductivity, ความหวาน และ redox potential จากน้ำผึ้งได้ (Anguebes et al., 2016: RaJalakshmi et al., 2017) อย่างไรก็ตามควรทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงองค์ประกอบหลักของน้ำผึ้งต่างๆ และการประยุกต์ใช้เทคนิค FTIR spectroscopy ในการวัดคุณภาพต่างๆของน้ำผึ้งทั้งนี้เพื่อเป็นประโยชน์ในการตรวจสอบคุณภาพ และยังสามารถใช้ในการยืนยันข้อมูลคุณภาพของน้ำผึ้งได้ในอนาคต

โดยจากการศึกษานี้มีข้อเสนอแนะเพิ่มเติมในการศึกษาวิจัยต่อไปดังนี้;

1. ควรมีการศึกษาองค์ประกอบของน้ำผึ้งชันโรงในแหล่งต่างๆ ด้วยเทคนิค HPLC หรือ LC-MSMS เพื่อหาสารประกอบหลักในน้ำผึ้งชันโรงที่เป็นประโยชน์ต่อการควบคุมคุณภาพและศึกษาฤทธิ์ด้านอื่นๆของน้ำผึ้งต่อไป

2. ควรมีการทดสอบพืช สารออกฤทธิ์ที่พบในน้ำผึ้งชันโรงกับพืชที่อยู่ในพื้นที่ที่เลี้ยงผึ้งชันโรงเพื่อยืนยันการออกฤทธิ์ที่ได้จากน้ำผึ้งชันโรงกับพืชที่พบในแหล่งเลี้ยงต่างๆ โดยเฉพาะสารในน้ำผึ้งชันโรงในระบบปิด เพราะชันโรงมีพื้นที่ในการหาอาหารที่จำเพาะและสามารถช่วยผสมพันธ์พืชชนิดอื่นๆได้อีกด้วย

3. ควรทำการประยุกต์ใช้เทคนิค FTIR spectroscopy และ FT-RAMAN spectroscopy ในการทำนายปริมาณสารปลอมปนในน้ำผึ้ง ปริมาณน้ำตาล ความชื้น ความเป็นกรด-เบส สาร HMF, electrical conductivity, ความหวาน และ redox potential ของน้ำผึ้งในประเทศไทย โดยยังไม่พบว่ามีรายงานการศึกษาดังกล่าวในประเทศไทย โดยเทคนิคดังกล่าวสามารถช่วยให้ผู้ผลิตน้ำผึ้งสามารถควบคุมคุณภาพน้ำผึ้งได้โดยที่ไม่ทำลายตัวอย่าง ไม่ซับซ้อนและรวดเร็ว

4. ควรมีการทำฐานข้อมูลสเปกตรัมของน้ำผึ้งในแต่ละแหล่งเปรียบเทียบกับพืชที่ใช้ในการเลี้ยงผึ้งชันโรง ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ในทางพาณิชย์ต่อไป

5. ควรมีการทดสอบสภาวะการเก็บรักษา ตัวอย่างน้ำาผึ้ง เช่น เก็บในที่มืด ในที่โดนแสงแดด และ/หรืออุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา เพื่อสังเกต ตัวแปรอื่นๆ ที่เป็นปัจจัยในการแปรผันของปริมาณสารประกอบ HMF ต่อไป

6. ควรมีการแยกลักษณะบรรจุภัณฑ์ของ น้ำาผึ้ง เช่น ขวดทึบ-ใส หรือวัสดุที่เป็นบรรจุภัณฑ์ ในการวิเคราะห์เพื่อศึกษาผลของปัจจัยจากบรรจภัณฑ์ที่เก็บรักษาน้ำผึ้ง

7. ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ยาอมเม็ดนิ่มควรมีการทดสอบฤทธิ์อื่นๆ เช่น ฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก และควรมีการทำการศึกษาปรับปรุงรสชาติของผลิตภัณฑ์ยาอมเม็ดนิ่มและทำการเผยแพร่ข้อมูลต่อชุมชนต่อไป

ทั้งนี้ทางผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยการศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้งชันโรงในแหล่งต่างๆและการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ จะเป็นประโยชน์ต่อประเทศและชุมชนที่ใช้ประโยชน์ของน้ำผึ้งชันโรง

ผลผลิต (Output)

(5.1) ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการทั้งในระดับชาติ และนานาชาติ

คณะผู้วิจัยอยู่ระหว่างการเตรียมตีพิมพ์เผยแพร่ในบทความระดับชาติ “จากยอดเขาถึงใต้ทะเล 8” และเตรียมตีพิพม์ในวารสารวิจัยระดับนานาชาติ

(5.2) ผลงานเชิงพาณิชย์ (มีการนำเสนอไปผลิต/ ขาย/ ก่อให้เกิดรายได้ หรือมีการนำไปประยุกต์ใช้โดยภาคธุรกิจ หรือบุคคลทั่วไป)

จากงานวิจัย คณะวิจัยได้นำเสนอและเผยแพร่ผลงานสู่ชุมชน ณ ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตรจังหวัดจันทบุรี (ศูนย์ผึ้งจันทบุรี) เพื่อส่งเสริมการเลี้ยงผึ้งชันโรงและการนำผลการพัฒนาลูกอมเม็ดนิ่มถ่ายทอดสู่ชุมชนต่อไป ณ งาน Beekeeping Day ครั้งที่ 4 ประจำปี 2562 ระหว่างวันที่ 3-4 เมษายน 2562 ดังภาคผนวก

(5.3) ผลงานเชิงสาธารณะ มีการเผยแพร่ผลงานวิจัยสู่ประชาชนสาธารณะ ณ งาน

คณะผู้วิจัยได้ร่วมนำเสนอผลงาน ณ งาน “ทรัพยากรไทย : ศักยภาพมากล้นมีให้เห็น” ในวันที่ 29 พฤศจิกายน – 1 ธันวาคม 2560, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สระบุรี เพื่อถ่ายทอดผลงานสู่ประชาชน

ขอเชิญเที่ยวงาน
Bee Keeping Day 4th
ผึ้งจันท์ แฟร์...ดูแลกัน
ระหว่างวันที่ 3-4 เมษายน 62
ณ ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตรจังหวัดจันทบุรี
ชมนิทรรศการการเลี้ยงผึ้งพันธุ์ ผึ้งโพรง ผึ้งชันโรง จิ้งหรีด
พบปะแกนนำเครือข่ายผู้เลี้ยงผึ้ง และเลือกซื้อสินค้าเกษตรปลอดภัย
3 เมษายน 62
09.30-10.30 น. - การเปิดตัวโครงการรักษ์ผึ้ง (Bee Love) โดยบริษัทซินเจนทา ฯ
- บรรยาย "สถานการณ์ผึ้งในเอเชีย" โดย ศ.ดร. สิริวัฒน วงษ์ศิริ
10.30-12.00 น. - บรรยาย "แนวทางประยุกต์ใช้แพทย์แผนไทยกับผลิตภัณฑ์จากผึ้งและผึ้งชันโรง (น้ำผึ้ง, เกสรผึ้ง, โปรโปลิส)" โดยแพทย์แผนไทยบุญยาพร ยี่มี
13.00-14.30 น. - บรรยาย "การพัฒนาการเลี้ยงผึ้งชันโรงเชิงพาณิชย์" โดย ผศ.ดร. อัญชลี สวาสดิ์ธรรม
14.45-16.15 น. - บรรยาย "การจำแนกสายพันธุ์ผึ้งชันโรง ที่พบในประเทศไทย" โดย ดร. ทิพยวรรณ สรรพสัตย์
4 เมษายน 62
08.45-10.15 น. - บรรยาย "การแสดงผลสารสำคัญที่พบในน้ำผึ้งชันโรงภาคตะวันออกจากแหล่งเลี้ยงที่แตกต่างกัน" โดย ดร. สุมิตร คุณเจตน
10.30-12.00 น. - บรรยาย "คนรุ่นใหม่กับการสร้างมาตรฐานน้ำผึ้งชันโรง" โดย ดร. จักราวุธ ไมทิพย
13.00-14.30 น. - บรรยาย "แนวทางการเลี้ยงผึ้งชันโรงเพื่อใช้ทางการเกษตรในอนาคต" โดย รศ.ดร. สมนึก บุญเกิด
14.45-15.45 น. - บรรยาย "สารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์ผึ้งยับยั้งเซลล์มะเร็ง" โดย รศ.ดร. จันทรเพ็ญ จันทรเจา
15.45-16.45 น. - บรรยาย "แนวทางการสร้างมาตรฐานฟาร์มผึ้งชันโรง" โดย ปศุสัตว์จังหวัดจันทบุรี
แผนที่
ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตรจังหวัดจันทบุรี โทร.039-389244
สำนักงานส่งเสริมและพัฒนาการเกษตรที่ 3 จังหวัดระยอง
ที่อยู่ 188/2 ม.1 ต.มะขาม อ.มะขาม จ.จันทบุรี 22150
ศูนย์ฯผึ้ง จันทบุรี

ค. ส่วนประกอบตอนท้าย

(1) รายงานการเงิน โดย

เลขที่โครงการระบบบริหารงานวิจัย 2560A10801007 สัญญาเลขที่ 171/2560 โครงการวิจัยสนองพระราชดำริโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยบูรพา งบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำผึ้งชันโรงในแหล่งต่างๆและการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ (Investigation of physical and chemical characteristic of stingless bees honey in different locations and product development) ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน อ.ดร. ศศิภาวรรณ มาชะนา รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2559 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2560

ระยะเวลาดำเนินการ..2.ปี .6.. เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2559 ถึงวันที่ 30 มีนาคม 2562

รายรับ

จำนวนเงินที่ได้รับ งวดที่ 1 (50%) .....209,000..... บาท เมื่อวัน เดือน ปี 22/11/2559

จำนวนเงินที่ได้รับ งวดที่ 2 (40%) .....167,200..... บาท เมื่อวัน เดือน ปี 16/08/2560

จำนวนเงินที่ได้รับ งวดที่ 3 (10%) .....41,800..... บาท

รวม 418,000 (สี่แสนหนึ่งหมื่นแปดพันบาท)

รายละเอียดรายจ่าย

รายจ่าย	รายการ งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ ใช้จริง	จำนวนเงิน คงเหลือ/เกิน
1. ค่าตอบแทน	***74,000***	***74,000***	0
1.1 ค่าตอบแทนคณะวิจัย ดร.ศศิภาวรรณ มาชะนา (10,000 บาท)/ดร. สุมิตร (10,000)/ ดร. กาญจนา ธรรมนู (10,000)/ ดร.บุญดิศย์ วงศ์ศักดิ์(10,000)/ ภก. ยศนันท์ วีระพล (10,000)	40,000	40,000	0
1.2 ค่าตอบแทนอาจารย์ที่ปรึกษา ภก.ผศ.ดร. ชำนาญ ภัตรพานิช (10,000)	10,000	10,000	0
1.3 ค่าตอบแทนทำงานล่วงเวลา - จำนวน 4 คน 30 วัน (วันทำการปกติ) (4 คน x 30 วัน x 50 บาท x 4ชั่วโมง)	24,000	24,000	0
2. ค่าจ้าง 1 ค่าจ้างชั่วคราวผู้ช่วยนักวิจัย (ปริญญาตรี) 1000 บาท x จำนวน 1 คน 12 เดือน	12,000	12,000	0
2. ค่าจ้างเหมาเลี้ยงผึ้งชันโรง	10,000	10,000	0
3. ค่าวัสดุ 3.1 สำหรับเลี้ยงผึ้งชันโรง รังผึ้งชันโรง จำนวน 15 รัง (5 แหล่ง แหล่งละ 3 รัง รังละ 2,000) วัสดุอื่นๆ ที่ใช้สำหรับเลี้ยงผึ้งชันโรง	24,000	24,000	0
3.2 อุปกรณ์การเก็บน้ำผึ้ง (test tube, vial, pipette, tip, syringe)	7000	7000	0
3.3 สำหรับการวิเคราะห์น้ำตาล ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และปริมาณสาร total phenolics และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	15,000	25,000	0
3.4 สำหรับวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งอาหารที่แตกต่างกัน ด้วยเทคนิค FT-IR spectroscopy	15,000	30,000	0
3.5 ค่าวัสดุในการพัฒนาผลิตภัณฑ์และควบคุมคุณภาพ	100,000	75,000	0

รายจ่าย	รายการ งบประมาณที่ตั้งไว้	งบประมาณที่ ใช้จริง	จำนวนเงิน คงเหลือ/เกิน
3.6 วัสดุสำนักงาน (กระดาษหมึกพิมพ์และเครื่องเขียน)	2,000	2,000	0
3.7 วัสดุคอมพิวเตอร์ เช่น CD-ROM, memory card, card reader	1,000	1,000	0
3.8 ค่าซ่อมแซมครุภัณฑ์	6,000	6,000	0
4.5 วัสดุเชื้อเพลิงและหล่อลื่น (ค่าโทรศัพท์ และไปรษณีย์ ในกิจกรรมงานวิจัย)	1,000	1,000	0
4. ค่าใช้สอย 4.1 ค่าใช้จ่ายในการเดินทางไปต่างจังหวัด (ชลบุรี-จันทบุรี และชลบุรี-กรุงเทพฯ) ค่าเบี้ยเลี้ยง (จำนวน 4 คนๆ ละ 240 บาท x 10 วัน)	9,600	9,600	0
ค่าพาหนะชลบุรี-จันทบุรี (200 กม x4 บาท x 2 เที่ยว x4 ครั้ง)	6,400	6,400	0
4.2 ค่าการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและเคมีน้ำผึ้งชันโรงเบื้องต้น	20,200	20,200	0
4.3 ค่าเช่าใช้เครื่องมือวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำผึ้งชันโรงจากแหล่งอาหารที่แตกต่างกันด้วยเทคนิค FT-Raman spectroscopy	70,000	70,000	0
4.4 ค่าถ่ายเอกสารและสืบค้นข้อมูล	2,000	2,000	0
4.5 ค่าจัดทำเล่มรายงานความก้าวหน้าและรายงานฉบับสมบูรณ์	2,000	2,000	0
5. ค่าครุภัณฑ์	-	-	-
6. ค่าใช้จ่ายอื่น ๆ (โปรดระบุเป็นข้อย่อย) ค่าธรรมเนียมการอุดหนุนสถาบัน(<10%)	41,800	41,800	0
รวม	**418,000**	**418,000**	0

(.....)

ลงนามหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

เอกสารอ้างอิง (Reference)

กองบรรณาธิการวารสารผู้ส่งออก. “จับตาน้ำผึ้งไทย ก้าวสู่ผู้ผลิตสำคัญของโลก” **ผู้ส่งออก**. 18(426) : 8 – 11. พฤษภาคม 2548.

กองบรรณาธิการหนังสือพิมพ์คม ชัด ลึก. “เลี้ยงชันโรงในสวนกำไร 2 ต่อ ได้น้ำหวาน-ช่วยผสมเกสรดอกไม้” **คม ชัด ลึก**. 5 มิถุนายน 2550.หน้า 8.

กองบรรณาธิการหมอชาวบ้าน. “น้ำผึ้ง...ความหวานที่มากคุณค่า” **หมอชาวบ้าน**. 25(290) : 17 – 24 : มิถุนายน 2546.

กองบรรณาธิการอุตสาหกรรมสาร. “น้ำผึ้ง เกสรผึ้ง นมผึ้ง” **อุตสาหกรรมสาร.**39(1) : 54 – 59. มกราคม – มีนาคม 2539.

ชามา อินซอน.2549. ความหลากหลายของชนิดชันโรง (Apidae: *Trigona* spp. และ *Hypotrigona*spp.) และพฤติกรรมการเก็บยางไม้จากธรรมชาติ ในโครงการทองผาภูมิ 72 พรรษามหาราชอำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธนานิธ เสือวรรณศรี. 2544. ผึ้ง. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง, กรุงเทพฯ.

ยุวริทร์ บุญทบ. 2545. แมลงภู่ (Xylocopa spp.) และบทบาทการผสมเกสรเสาวรส(Passifloraedulis Sims form flavicarpaDegener). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วันทา ทวีผล. 2546. การศึกษาชีววิทยาของชันโรง *Trigona (Lepidotrigona) terminata* Smithและประสิทธิภาพการช่วยผสมเกสรทุเรียนพันธุ์ชะนี (*Duriozibethinus* L.) CultivarChane.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วันดีวัฒนชัยยิ่งเจริญ, ธัชคณิน จงจิตวิมล, กมลรัตน์ บุญถาวร, มาลินี ศรีพรมมา, มาลี เรืองฤดี และแสงจันทร์ ชุติยารัตน์. 2547. ความหลากชนิดและแหล่งอาศัยของชันโรงในพื้นที่เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าซับลังกา จังหวัดลพบุรี. NU Science Journal1(1): 63-64.

สมนึก บุญเกิด. 2541. การดำรงชีวิตของชันโรง. วารสารเทคโนโลยีชาวบ้าน 10 (188): 47-49

สมนึก บุญเกิด และ ธนานิธ เสือวรรณศรี. ผึ้ง แมลงที่มีแต่ให้...?. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มติชน, 2544.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร : น้ำผึ้ง ตามพระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร พ.ศ. 2551. เล่ม 131 ตอนพิเศษ 31 ง หน้า 4มกษ. 8003-2556.

อัญชลี สวาสดิ์ธรรม,พิลานี ไวถนอมสัตย์,และสุคันธรส ธาดากิตติสาร.การเปรียบเทียบองค์ประกอบของน้ำผึ้งชันโรงและน้ำผึ้งจากผึ้งพันธุ์ (*Apismellifera* L.).Comparative composition of honey from Thai stingless bee and European honeybee(*Apismellifera* L.).การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 : สาขาพืช. 2552.

Adnan F, Sadiq M, Jehangir A. 2011. Anti-hyperlipidemic effect of Acacia honey (desi kikar) in cholesterol-diet induced hyperlipidemia in rats. Biomedica 27: 62-67.

Anguebes, Pat L, Ali B, Guerrero A, Córdova AV,Abatal M, Garduza JP. 2016. Application of Multivariable Analysis and FTIR-ATR Spectroscopy to the Prediction of Properties in Campeche Honey. Journal of Analytical Methods in Chemistry: 14pp

AOAC.Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed. Maryland: AOAC International, 2005.

Boontop Y., Malaipan S, Chareansom K, Wiwatwittaya D. 2008. Diversity of Stingless Bees (Apidae: Meliponini) in Thong Pha Phum District, Kanchanaburi Province, Thailand. Kasetsart J. Nat. Sci. 42 : 444 - 456.

Bogdanov, S. 2002. Harmonized Methods of the European Honey Commission. International Honey Commission. Apidology, ISSN 0044-8435.

Bartelli D. et al., 2007. Classification of Italian honeys bymid-infrared diffuse reflectance spectroscopy (DRIFTS).Food Chem., 101, 1565.

Baeten V. et al., 2005. Detection of the presence of hazelnutoil in olive oil by FT-Raman and FT-MIR spectroscopy.J. Agric. Food Chem., 53(16), 6201.

Batsoulis A.N. et al., 2005.FT-Raman spectroscopicsimultaneous determination of fructose and glucose inhoney.J. Agric. Food Chem., 53, 207.

Biluca, F. C., Bernal, J., Valverde, S., Ares, A. M., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. 2019. Determination of Free Amino Acids in Stingless Bee (Meliponinae) Honey. Food Analytical Methods. 12(4): 902–907

Chakir A, Romane A, Marcazzan GL, Ferrazzi P, 2011. Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco. Arabian Journal of Chemistry.

Chua, L.S., Rahaman, N.L.A., Adnan, N.A., Tan, T.T.E., 2013. Antioxidant Activity of Three Honey Samples in Relation with Their Biochemical Components. Journal of Analytical Methods in Chemistry 2013, 1-8

Chuttong B, Chanbanga Y, Sringarm K and Burgett M. 2016. Physicochemical profiles of Stingless bee (Apidae: Meliponini) Honey from South East Asia (Thailand). Food Chem. 192, 149-155.

Codex Committee on Sugars, Revised Codex Standard forHoney. Stand. Stand. Methods 2001, 11, 1-7.

FernándezPierna J. A., Abbas O., Dardenne P., Baeten V. 2011. Discrimination of Corsican honey by FT-Ramanspectroscopy and chemometrics. Biotechnol.Agron. Soc. Environ. 15(1), 75-84.

Ferreira, I.C.F.R., Aires, E., Barreira, J.C.M., Estevinho, L.M., 2009. Antioxidant Activity of Portuguese Honey Samples: Different Contributions of the Entire Honey and Phenolic Extract. Food Chemistry 1438-1443.

Garcia-Alvarez, M., Huidobro J.F., Hermida M., Rodriguez-Oteroj J.L., 2000. Major componenes of honey analysis by near-infrared transflectance spectroscopy. Agric. Food Chem., 48, 5154-5158.

Gelatin Manufacturers Institute of America. Gelatin Handbook. 2012. 11 Sep 2014. Available from: www.gelatin-gmia.com.

Guerrini, A., Bruni, R., Maietti, S., Poli, F., Rossi, D., Paganetto, G., Muzzoli, M., Scalvenzi, L., Sacchetti, G., 2009. Ecuadorian Stingless Bee (Meliponinae) Honey: A Chemical and Functional Profile of an Ancient Health Product. Food Chemistry 114, 1413-1420.

Hewitson J., 2009. Composition of honey, http://www.saps.plantsci.cam.ac.uk/records/ rec336.htm, (29/01/10).

Khalil MI, Mahaneem M, Sahil Jamalullail SM, Alam N, Sulaiman SA 2011. Evaluation of radical scavenging activity and colour intensity of nine Malaysian honeys of different origin. J. ApiProd. ApiMed. Sci., 3(1): 04 -11.

Khurana HK, Cho IK, Jun SJ, Shim JY, Li QX. 2008. Application of multi bounce attenuatedtotal reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy and chemometricsfor rapid determination of aspartame in soft drinks. J Agric Food Chem56(3):778–89.

Kek SP, Chin NL,Yusof YA, Tan SW, Chua LS. 2014. Total Phenolic Contents and Colour Intensity of Malaysian Honeys from the Apis spp. and Trigona spp. Bees . Agriculture and Agricultural Science Procedia, 2: 150 – 155

Luykx, D. and Ruth, S. (2008) Anoverviewof analytical methods for determining the geographicalorigin of food products. FoodChemistry 107, 897-911.

Issaro, N., Weerakul, T., Machana, S., Ornnim, P., Phanudulkitti, C., Srijan, T., Laiwattanaphaisal, J., Pattarapanich, C. 2014. Stingless Bee Honey Ii: Qualitative And Quantitative Studies On Honey Produced By Three Stingless Bee Species Collected From A Mangosteen Garden In Chantaburi Province, Thailand. Thai Journal of Pharmaceutical Sciences, Supplement, 38:16

Machana S., Ornnim P., Weerakul T., Ninsanthea C., Phanudulkitti, C., Srijan T., Pattarapanich, C., Thumanu K., Tanthanuch W. 2012. The study of application for discrimination of royal honey bee from three Thai stingless honey bees (*Trigona Spp.*) using FTIR-microspectroscopy. Thai Journal of Pharmaceutical Sciences, 36, p193

Michener, C.D. 1946. Notes on the habits of some Panamanian stingless bees (Hymenoptera:Apidae). New York Entomol. Soc., 54: 179-797.

Michener, C.D. 2000. The Bee of the World.The Johns Hopkins University press.

Michener, D. C. and S. Boongird. 2004. A New Species of Trigona from Peninsular Thailand(Hymenoptera: Apidae: Meliponini). Journal of The Kansas Entomologycal Society. 77(2): 143-146.

Mohamed AF, Abeer AA, Sharifa AB. 2018. Color, flavonoids, phenolics and antioxidants of Omani honey. Heliyon. 4(10): e00874.

Moniruzzaman, M., Khalil, M.I., Sulaiman, S.A., Gan, S.H., 2013a. Physicochemical and Antioxidant Properties of Malaysian Honeys Produced by Apis cerana, Apis dorsata and Apis mellifera. BMC Complementary and Alternative Medicine 13, 1-12.

Moniruzzaman, M., Sulaiman, S.A., Khalil, M.I., Gan, S.H., 2013b. Evaluation of Physicochemical and Antioxidant Properties of Sourwood and Other Malaysian Honeys: A Comparison with Manuka Honey. Chemistry Central Journal 7, 138.

Moreira, RFA; Trugo, LC; Pietroluongo M, De Maria CAB.Flavor Composition of Caschew(*Anacardiumoccidentale*) and Marmeleiro(*Croton Species*) Honeys.American Chemistry Society.2002 : 7616 – 7621.

Paradkar M. &Irudayaraj J.M.K., 2002.Discrimination andclassification of beet and cane inverts in honey by FT-Raman spectroscopy.Food Chem., 76, 231.

Perez E, Rodriguez-Malaver AJ, Vit P (2006). Antioxidant capacity of Venezuelan honey in wistar rat homogenates. J. Med. Food, 9(4): 510-516.

Ranneh, Y., Ali, F., Zarei, M., Akim, A. M., Hamid, H. A., & Khazaai, H. 2018. Malaysian stingless bee and Tualang honeys: A comparative characterization of total antioxidant capacity and phenolic profile using liquid chromatography-mass spectrometry. LWT, 89, 1–9.

Rios-CorripioM A, Rios-LealE, Rojas-LópezM, Delgado-MacuilR. 2011 FTIR characterization of Mexican honey and its adulteration with sugar syrups by using chemometric methods. Journal ofPhysics:ConferenceSeries 274: 1-5.

Ruoff K. et al., 2006. Authentication of the botanicaland geographical origin of honey bymid-infraredspectroscopy.J. Agric. Food Chem., 54, 6873.

RaJalakshmi G. Gopal A. KumarA Kumar AD. 2017. Identification of moisture, glucose, sucrose, fructose region in honey sample using NIR spectroscopy. Third International Conference on Sensing, Signal Processing and Security (ICSSS). DOI: 10.1109/SSPS.2017.8071625

Schwarz, H.F. 1939. The Indo-Malayan species of T*rigona.Bulletin* of the American Museum of National History. Vol 76, 111: 83-141.

Souza, B; Roubik, D; Barth, O. et al. Composition of stingless bee honey : setting quality standards.Interciancia. 2006 DEC; 31(12) : 867-75.

Sriamornsak P, Kennedy RA. A novel gel formation method, microstructure and mechanical properties of calcium polysaccharide gel films. International Journal of Pharmaceutics. 2006;323(1–2):72-80.

The United States Pharmacopeial Convention Inc,USP 31/NF 26.Chapter <1151>.2008 Rockville M; 2008; 616-625.

Toher D., Downey G. & Murphy T.B., 2007. A comparison of model-based and regression classification techniques applied to near infrared spectroscopic data in foodauthentication studies. Chemom.Intell. Lab. Syst., 89(2),102.

WangJ, KliksMM, JunS, JacksonM, LI Q X. 2010. Rapid analysis of glucose, fructose, sucrose, and maltose in honeys from different geographic regions using fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis. Journal of Food Science.75, 2.

Wille, A. 1983.Biology of the stingless Bee. Ann. Rev. Entomol., 28: 4-64.