บทที่ 4

ผลการทดลอง

น้ำผึ้งไทยทั้ง 29 ตัวอย่างที่นำมาทดสอบมีความแตกต่างกันทั้งชนิดของน้ำผึ้งซึ่งแบ่งตามพืชอาหารของผึ้งได้ 9 ชนิดด้วยกัน และมีความแตกต่างกันที่แหล่งผลิตน้ำผึ้งซึ่งมาจากหลายบริษัท เมื่อสังเกตลักษณะทางกายภาพ ซึ่งประกอบด้วย สี ค่า pH และ ปริมาณความชื้นให้ผลดังตาราง 7

ตาราง 7 ลักษณะทางกายภาพของน้ำผึ้งแต่ละชนิด

น้ำผึ้ง	ชนิดพืช	ค่า pH (เฉลี่ย)	ความชื้น (%)	สี
ลำไย	*Dimocarpus longan*	4.31±0.21	19.95±0.01	+++ / ++++
สาบเสือ	*Eupotorium odortum*	3.86±0.28	20.10±0.03	+++ / ++++
ลิ้นจี่	*Litchi chinensis*	4.14±0.14	20.00±0.02	++ / +++
ทานตะวัน	*Helianthus annuus*	3.55±0.07	20.20±0.00	++/ +++
นุ่น	*Ceiba pentandra*	3.75±0.00	19.85±0.03	+++++
ยางพารา	*Hevea brasiliensis*	3.61±0.14	20.05±0.04	+ / ++
งา	*Sesamum indicum*	3.47±0.07	19.40±0.01	+++
เงาะ	*Nephelium lappaceum*	3.78±0.07	20.10±0.01	++++++
ป่า	multifloral	3.81±0.14	19.80±0.02	+++/++++

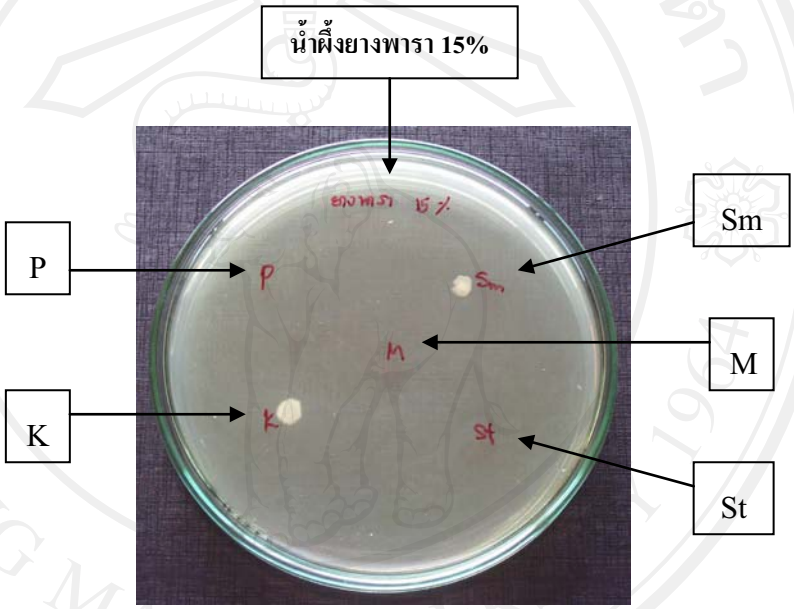
หมายเหตุ + หมายถึง ระดับความเข้มของสี

1. การทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียและยีสต์ก่อโรคของน้ำผึ้ง

จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 14 ชนิด ประกอบด้วย *Bacillus cereus* TISTR 687, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* DMST 8216, *Listeria monocytogenes* DMST 17303, *Micrococcus luteus* DMST 15503, *Proteus mirabilis* DMST 8212, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* TISTR 517, *Staphylococcus epidermidis* DMST 15505, *Streptococcus pyogenes* DMST 17020, methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST 20625, *Serratia marcescens*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

DMST 21632, *Salmonella typhimurium* DMST 562 และ *Propionibacterium acnes* DMST 14916 และยีสต์ 2 ชนิด คือ *Candida albicans* ATCC 10231 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5343 โดยวิธี agar incorporation technique โดยใช้เชื้อปริมาณ 0.5 µl พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกชนิดซึ่งมีค่า MIC อยู่ระหว่าง 6-22% (v/v) ยกเว้นเชื้อยีสต์ทั้งสองชนิด แสดงลักษณะการยับยั้งในภาพที่ 1 สังเกตได้ว่าถ้าความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่สามารถยับยั้งเชื้อได้จะแสดงลักษณะที่ใสเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อปกติที่ไม่มีเชื้อขึ้น ส่วนบริเวณที่มีเชื้อปรากฏขึ้นแสดงว่าความเข้มข้นของน้ำผึ้งน้อยเกินกว่าที่จะสามารถยับยั้งเชื้อได้ และผลการยับยั้งแสดงในตารางที่ 8



ภาพ 1 ลักษณะการยับยั้งเชื้อของน้ำผึ้งงาที่ความเข้มข้น 15% (v/v) เชื้อที่ถูกยับยั้งด้วยน้ำผึ้งจะไม่พบโคโลนีของเชื้อขึ้นแต่เชื้อที่ไม่ถูกยับยั้งจะพบโคโลนีขึ้นดังรูป ซึ่งมีลักษณะเป็นสีขาว โดยที่ P คือ *Proteus mirabilis*, Sm คือ *Serratia marcescens*, M คือ methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), K คือ *Klebsiella pneumoniae*, St คือ *Salmonella typhimurium*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 8 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 14 ชนิด และเชื้อยีสต์ 2 ชนิด

แบคทีเรีย	ค่าเฉลี่ย MIC (%v/v)						
	ลำไย-1	ลำไย-2	ลำไย-3	ลำไย-4	สาบเสือ-1	สาบเสือ-2	สาบเสือ-3
Staphylococcus aureus TISTR 517	10±0.00	10±0.00	10±0.00	6±0.00	9±0.00	12±0.00	12±0.00
Bacillus cereus TISTR 687	10±0.00	10±0.00	10±0.00	8±0.00	8±0.00	12±0.00	12±0.00
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	11±0.00	10.67±0.58	8±0.00	10±0.00	10±0.00	12±0.00	12±0.00
Escherichia coli ATCC 25922	15±0.00	10±0.00	13±0.00	10±0.00	15±0.00	13±0.00	15±0.00
Micrococcus luteus DMST 15503	13±0.00	13±0.00	12±0.00	10±0.00	13±0.00	12±0.00	8±0.00
Staphylococcus epidermidis DMST 15505	10.67±0.58	10±0.00	10±0.00	6±0.00	13±0.00	10.67±0.58	8±0.00
Streptococcus pyogenes DMST 17020	11.33±1.15	10±0.00	10±0.00	10.67±0.58	12±0.00	10±0.00	13±0.00
Listeria monocytogenes DMST 17303	11±0.00	11±0.00	13±0.00	11±0.00	11±0.00	11±0.00	11±0.00
Proteus mirabilis DMST 8212	10±0.00	11±0.00	11±0.00	8±0.00	7.67±0.58	10±0.00	9±0.00
Klebsiella pneumoniae DMST 8216	15±0.00	8±0.00	14±0.00	12±0.00	14±0.00	14±0.00	14±0.00
MRSA DMST 20625	7.73±0.58	8±0.00	6±0.00	8±0.00	10±0.00	13±0.00	8±0.00
Serratia marcescens DMST 21632	10±0.00	20±0.00	22±0.00	13.33±0.58	20±0.00	22±0.00	20±0.00
Salmonella typhimurium DMST 562	7.73±0.58	8±0.00	7±0.00	8±0.00	10±0.00	9±0.00	9.33±0.58
Propionibacterium acnes DMST14916	6±0.00	10±0.00	6±0.00	6±0.00	9±0.00	8±0.00	8±0.00
Candida albicans ATCC 10231	-	-	-	-	-	-	-
Saccharomyces cerevisiae TISTR 5343	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ – หมายถึง ไม่ยับยั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 8 (ต่อ)

แบคทีเรีย	ค่าเฉลี่ย MIC (%v/v)						
	สาบเสือ-4	สาบเสือ-5	ลิ้นจี่-1	ลิ้นจี่-2	ลิ้นจี่-3	ทานตะวันr-1	ทานตะวัน-2
Staphylococcus aureus TISTR 517	10.67±0.58	10.33±0.58	14±0.00	13±0.00	10±0.00	12±0.00	12±0.00
Bacillus cereus TISTR 687	10±0.00	8±0.00	12±0.00	12±0.00	10±0.00	10±0.00	10±0.00
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	11.33±0.58	10±0.00	12±0.00	12±0.00	10±0.00	12±0.00	12±0.00
Escherichia coli ATCC 25922	12±0.00	10±0.00	13±0.00	13±0.00	13±0.00	15±0.00	13±0.00
Micrococcus luteus DMST 15503	12±0.00	10±0.00	13±0.00	13±0.00	11±0.00	10±0.00	13±0.00
Staphylococcus epidermidis DMST 15505	8±0.00	8±0.00	10±0.00	10±0.00	10±0.00	12±0.00	12±0.00
Streptococcus pyogenes DMST 17020	13±0.00	9±0.00	10±0.00	10±0.00	13.33±0.58	10±0.00	8±0.00
Listeria monocytogenes DMST 17303	11±0.00	11±0.00	13±0.00	12±0.00	12±0.00	12±0.00	12±0.00
Proteus mirabilis DMST 8212	9±0.00	8±0.00	15±0.00	9.67±0.58	14±0.00	6±0.00	12±0.00
*Klebsiella pneumoniae*DMST 8216	14±0.00	12±0.00	17±0.00	14±0.00	17±0.00	14±0.00	17±0.00
MRSA DMST 20625	10±0.00	8±0.00	14±0.00	11±0.00	14±0.00	15±0.00	12±0.00
Serratia marcescens DMST 21632	20±0.00	20±0.00	22±0.00	22±0.00	22±0.00	17±0.00	20±0.00
Salmonella typhimurium DMST 562	9.33±0.58	9.33±0.58	13±0.00	9.33±0.58	12±0.00	15±0.00	15±0.00
Propionibacterium acnes DMST14916	7±0.00	8±0.00	10±0.00	12±0.00	11±0.00	11±0.00	12±0.00
Candida albicans ATCC 10231	-	-	-	-	-	-	-
Saccharomyces cerevisiae TISTR 5343	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ – หมายถึง ไม่ยับยั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 8 (ต่อ)

แบคทีเรีย	ค่าเฉลี่ย MIC (%v/v)					
	ทานตะวัน-3	เงาะ-1	เงาะ-2	งา-1	งา-2	งา-3
Staphylococcus aureus TISTR 517	10±0.00	10±0.00	13±0.00	8±0.00	9±0.00	10±0.00
Bacillus cereus TISTR 687	8±0.00	8±0.00	8±0.00	6±0.00	8±0.00	8±0.00
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	10±0.00	12±0.00	12±0.00	10±0.00	10±0.00	10±0.00
Escherichia coli ATCC 25922	12±0.00	12±0.00	17±0.00	15±0.00	12±0.00	14±0.00
Micrococcus luteus DMST 15503	8±0.00	10±0.00	10±0.00	8±0.00	8±0.00	8±0.00
Staphylococcus epidermidis DMST 15505	7±0.00	8±0.00	10±0.00	6±0.00	10±0.00	10±0.00
Streptococcus pyogenes DMST 17020	9±0.00	8±0.00	9±0.00	10.67±0.58	10±0.00	12±0.00
Listeria monocytogenes DMST 17303	11±0.00	10±0.00	14±0.00	11±0.00	11±0.00	14±0.00
Proteus mirabilis DMST 8212	6±0.00	8±0.00	6±0.00	6±0.00	8±0.00	9±0.00
Klebsiella pneumoniae DMST 8216	12±0.00	14±0.00	20±0.00	12±0.00	14±0.00	14±0.00
MRSA DMST 20625	6±0.00	9±0.00	10±0.00	8±0.00	9±0.00	9±0.00
Serratia marcescens DMST 21632	14±0.00	15±0.00	18±0.00	14±0.00	22±0.00	22±0.00
Salmonella typhimurium DMST 562	8±0.00	9±0.00	9±0.00	10.33±1.53	8±0.00	8±0.00
Propionibacterium acnes DMST14916	11±0.00	7±0.00	7±0.00	8±0.00	10±0.00	10±0.00
Candida albicans ATCC 10231	-	-	-	-	-	-
Saccharomyces cerevisiae TISTR 5343	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ – หมายถึง ไม่ยับยั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 8 (ต่อ)

แบคทีเรีย	ค่าเฉลี่ย MIC (%v/v)					
	ยางพารา-1	ยางพารา-2	ยางพารา-3	นุ่น-1	นุ่น-2	นุ่น-3
Staphylococcus aureus TISTR 517	10.33±0.58	18±0.00	18±0.00	12±0.00	12±0.00	12±0.00
Bacillus cereus TISTR 687	10.33±0.58	12±0.00	8±0.00	8±0.00	6±0.00	6±0.00
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	11.67±1.65	12±0.00	8±0.00	13±0.00	6±0.00	6±0.00
Escherichia coli ATCC 25922	15±0.00	15±0.00	14±0.00	15±0.00	16±0.00	14±0.00
Micrococcus luteus DMST 15503	11±0.00	9±0.00	10±0.00	6±0.00	6±0.00	6±0.00
Staphylococcus epidermidis DMST 15505	10±0.00	11±0.00	14±0.00	13±0.00	11±0.00	10±0.00
Streptococcus pyogenes DMST 17020	10±0.00	13±0.00	12±0.00	10±0.00	10±0.00	10±0.00
Listeria monocytogenes DMST 17303	11±0.00	16±0.00	16±0.00	10±0.00	14±0.00	14±0.00
Proteus mirabilis DMST 8212	11±0.00	10±0.00	12±0.00	8±0.00	6±0.00	6±0.00
Klebsiella pneumoniae DMST 8216	14±0.00	22±0.00	22±0.00	6±0.00	20±0.00	20±0.00
MRSA DMST 20625	14±0.00	13±0.00	15±0.00	10±0.00	12±0.00	10±0.00
Serratia marcescens DMST 21632	18±0.00	22±0.00	22±0.00	20±0.00	21±0.00	20±0.00
Salmonella typhimurium DMST 562	14±0.00	11±0.00	13±0.00	10±0.00	12±0.00	12±0.00
Propionibacterium acnes DMST14916	10±0.00	13±0.00	12±0.00	8±0.00	9±0.00	9±0.00
Candida albicans ATCC 10231	-	-	-	-	-	-
Saccharomyces cerevisiae TISTR 5343	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ – หมายถึง ไม่ยับยั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 8 (ต่อ)

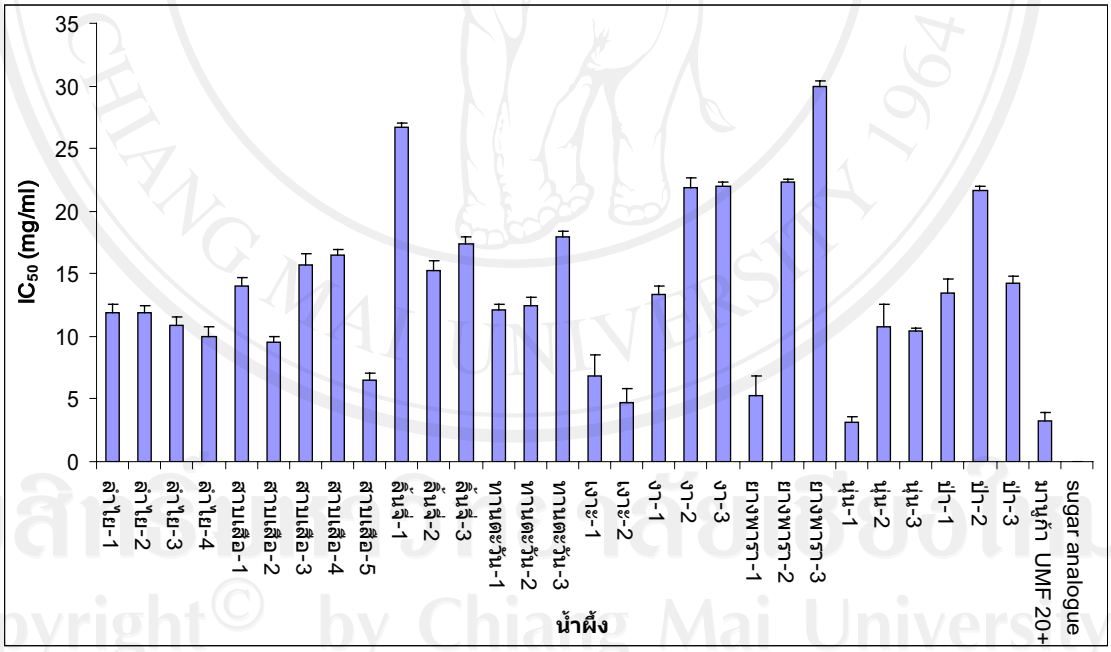
แบคทีเรีย	ค่าเฉลี่ย MIC (%v/v)				
	ป่า-1	ป่า-2	ป่า-3	มานูก้า UMF 20+	Artificial honey
Staphylococcus aureus TISTR 517	7±0.00	14±0.00	11±0.00	5±0.00	>30
Bacillus cereus TISTR 687	7±0.00	6±0.00	6±0.00	5.33±0.58	30±0.00
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	10±0.00	6±0.00	6±0.00	10±0.00	30±0.00
Escherichia coli ATCC 25922	10±0.00	16±0.00	9±0.00	7.33±0.58	30±0.00
Micrococcus luteus DMST 15503	7±0.00	6±0.00	6±0.00	8±0.00	30±0.00
Staphylococcus epidermidis DMST 15505	7±0.00	13±0.00	11±0.00	4.67±0.58	>30
Streptococcus pyogenes DMST 17020	9±0.00	13±0.00	12±0.00	8±0.00	30±0.00
Listeria monocytogenes DMST 17303	10±0.00	13±0.00	12±0.00	9.33±1.15	30±0.00
Proteus mirabilis DMST 8212	10±0.00	13±0.00	8±0.00	9±0.00	>30
Klebsiella pneumoniae DMST 8216	13±0.00	16±0.00	12±0.00	10±0.00	>30
MRSA DMST 20625	8±0.00	13±0.00	11±0.00	6±0.00	>30
Serratia marcescens DMST 21632	14±0.00	22±0.00	21±0.00	15±0.00	30±0.00
Salmonella typhimurium DMST 562	8±0.00	6±0.00	7±0.00	7.33±0.58	30±0.00
Propionibacterium acnes DMST14916	7±0.00	8±0.00	8±0.00	6±0.00	28±0.00
Candida albicans ATCC 10231	-	-	-	-	-
Saccharomyces cerevisiae TISTR 5343	-	-	-	-	-

หมายเหตุ – หมายถึง ไม่ยับยั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

จากการนำตัวอย่างน้ำผึ้ง ไทย 9 ชนิด รวม 29 ตัวอย่างด้วยกัน มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay โดยนำแต่ละความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำผึ้งทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณหา % inhibition แล้วนำมา plot กราฟแสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำผึ้งกับ % inhibition (ภาคผนวก ค) นำสมการที่ได้จากกราฟมาคำนวณหาค่า IC_{50} ซึ่งเป็นค่าที่ตัวอย่างน้ำผึ้งสามารถยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระได้ครึ่งหนึ่ง ถ้าค่าที่ได้มีค่าน้อย แสดงถึงประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระยิ่งมีค่ามาก จากการทดสอบพบว่าตัวอย่างโดยรวมแล้วน้ำผึ้งเงาะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด มีค่าอยู่ในช่วง 4.70-6.89 mg/ml และตัวอย่างน้ำผึ้งที่มีฤทธิ์ค่อนข้างต่ำ คือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ และน้ำผึ้งยางพารา โดยที่น้ำผึ้งลิ้นจี่ให้ค่าโดยเฉลี่ยแล้วต่ำที่สุดอยู่ในช่วง 15.21-26.67 mg/ml (ภาพที่ 2)

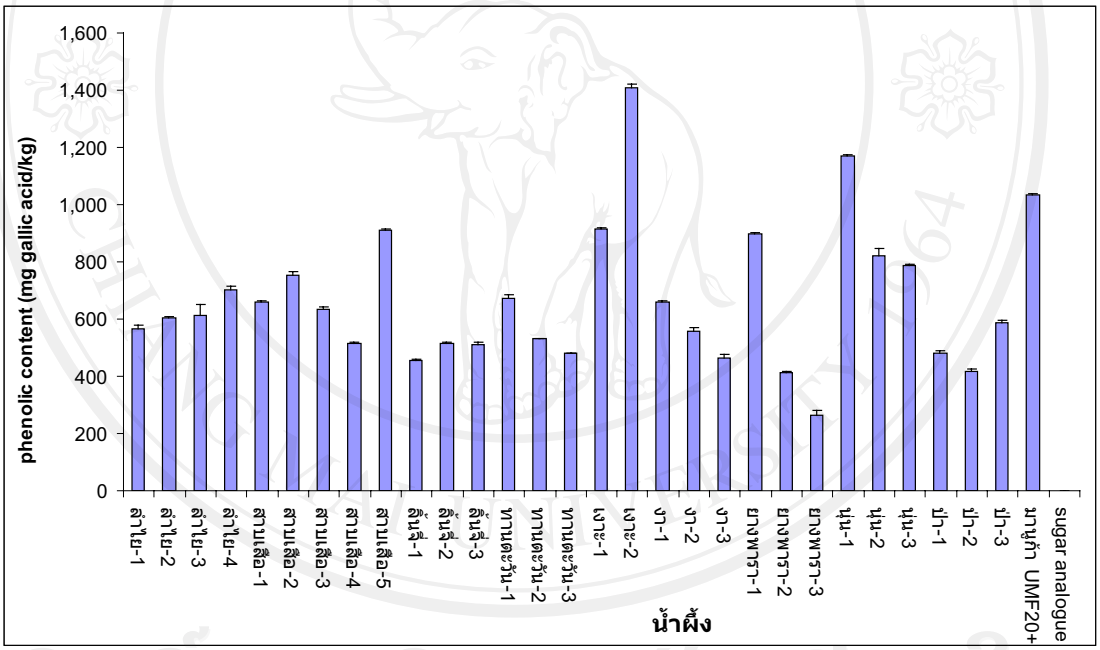


ภาพ 2 กิจกรรมของการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างน้ำผึ้งไทยทั้ง 29 ตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การตรวจหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิค phenolic compound

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ใช้วิธีที่เรียกว่า Folin-Ciocalteu assay โดยนำสารละลายตัวอย่างน้ำผึ้งทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Ciocalteu เมื่อทำการสร้างกราฟมาตรฐานได้สมการเป็น y = 0.0077x และมีค่าความเชื่อมั่นที่ R^2 = 0.9971 จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่างน้ำผึ้งไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด โดยเทียบกับสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานมีหน่วยเป็น mg/kg (ภาคผนวก ข) พบว่าตัวอย่างน้ำผึ้งเงาะและน้ำผึ้งนุ่นให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคที่ดีมากซึ่งอยู่ ในช่วง 913.85-1,406.93 และ 788.74-1,171 mg gallic acid/kg ตามลำดับ



ภาพ 3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดของตัวอย่างน้ำผึ้งทั้ง 29 ชนิด

4. การสกัดแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ในการศึกษาขั้นนี้ดังที่ใช้วิธี column chromatography แยกสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ออกมาโดยผ่าน column แก้ว ภายในบรรจุ Amberlite XAD-2 resin และใช้ methanol เป็นตัวชะสารออกมา ได้สารสกัดมีลักษณะเป็นสีเหลือง ละลายผสมรวมอยู่กับ methanol และเมื่อนำสารละลายที่ได้ไปผ่านการทำให้เข้มข้นขึ้น ด้วย rotary evaporator ที่ 40°C หรือ แยกเอา methanol ออก ได้สารที่มีสีเหลืองน้ำตาล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. การวิเคราะห์สาร

เมื่อนำสารที่สกัดได้จากน้ำผึ้งไปวิเคราะห์โดยเทคนิค HPLC โดยใช้สารมาตรฐาน 7 ชนิดด้วยกัน คือ quercetin, ellagic acid, myricetin, hesperitin, luteolin, kaemferol และ chrysin (ภาคผนวก ง) เมื่อทดสอบเชิงคุณภาพด้วยการพิจารณาระหว่างกราฟของสารมาตรฐานและค่า retention time กับตัวอย่างสารสกัดน้ำผึ้ง พบว่าน้ำผึ้งดอกไม้ป่ามี องค์ประกอบของสารที่ตรงกับสารมาตรฐานทั้ง 7 ชนิดยกเว้น quercetin เช่นเดียวกับน้ำผึ้งยางพารา น้ำผึ้งลิ้นจี่ และน้ำผึ้งงา (ภาคผนวก ง) ในขณะเดียวกันน้ำผึ้งเงาะมีองค์ประกอบของสารที่ตรงกับสารมาตรฐานทั้ง 7 ชนิด เช่นเดียวกับน้ำผึ้งทานตะวันและน้ำผึ้งสาบเสือ (ภาคผนวก ง) ในส่วนของน้ำผึ้งนุ่นมีองค์ประกอบของสารที่ตรงกับสารมาตรฐานคือ quercetin, ellagic acid, myricetin และ chrysin (ภาคผนวก ง) และน้ำผึ้งลำไยมีองค์ประกอบของสารที่ตรงกับสารมาตรฐานทั้ง 7 ชนิดยกเว้น myricetin (ภาคผนวก ง) จากการทดสอบเชิงปริมาณพบว่าตัวอย่างสารสกัดน้ำผึ้งทั้ง 9 ชนิด ให้ปริมาณสารฟีนอลิค และ ฟลาโวนอยด์ ดังแสดงในตาราง 9

ตาราง 9 ปริมาณสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำผึ้ง

ชนิดน้ำผึ้ง	**สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (µg/100 g)**						
	quercetin	ellagic acid	myricetin	hesperitin	luteolin	kaempferol	chrysin
ดอกไม้ป่า	-	5.46±0.02	0.74±0.36	11.98±1.00	59.94±0.26	18.66±3.28	7.82±0.48
เงาะ	26.96±5.16	25.70±0.70	2.94±0.16	115.70±7.6	578.5038.36	154.60±19.5	51.025.72
นุ่น	33.20±0.30	26.34±2.68	18.36±2.96	-	-	-	94.56±2.62
ยางพารา	-	4.32±0.76	4.52±2.78	2.62±0.06	13.08±3.74	933.48±118.46	2.08±2.32
ลิ้นจี่	-	3.74±0.84	4.52±0.02	47.54±4.64	237.66±10.18	546.22±42.34	2.88±0.42
ลำไย	15.44±2.30	177.06±11.22	-	6.10±0.40	30.50±1.96	95.70±9.30	8.60±8.60
งา	-	0.72±0.94	3.06±0.26	9.76±1.02	48.80±7.04	117.18±6.64	31.347.86
ทานตะวัน	0.36±0.10	31.66±4.82	39.44±9.76	2.96±1.76	14.76±3.70	15.62±3.14	4.92±1.76
สาบเสือ	3.16±1.30	219.56±6.28	0.62±0.36	27.88±0.96	139.38±12.66	3.60±2.20	2.08±2.08

หมายเหตุ วิเคราะห์ผล ณ ห้องปฏิบัติการกลาง อาคารเฉลิมพระเกียรติชั้น 2 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากตาราง 10 จะเห็นได้ว่า quercetin พบในน้ำผึ้งเพียง 5 ชนิดเท่านั้น คือ น้ำผึ้งเงาะ น้ำผึ้งนุ่น น้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งทานตะวัน และน้ำผึ้งสาบเสือ โดยมีปริมาณมากที่สุดในน้ำผึ้งนุ่น 33.20 µg/100 g ellagic acid พบในน้ำผึ้งทุกชนิดโดยพบมากที่สุดในน้ำผึ้งสาบเสือ 219.56 µg/100 g และน้อยที่สุดในน้ำผึ้งงา 0.72 µg/100 g myricetin ไม่พบในน้ำผึ้งลำไยและมีปริมาณไม่มากนักในน้ำผึ้งแต่ละชนิดแต่มีปริมาณมากในน้ำผึ้งทานตะวัน 39.44 µg/100 g hesperitin ไม่พบในน้ำผึ้งนุ่นแต่พบในน้ำผึ้งเงาะมากที่สุด 115.70 µg/100 g luteolin และ kaempferol ทั้ง 2 ชนิด เป็นสารฟลาโวนอยด์ที่พบในปริมาณมาก เมื่อเทียบกับสารอื่น ๆ ในตาราง โดย luteolin เป็นสารที่พบมากที่สุดเป็นอันดับที่ 2 ของตารางนี้ มีปริมาณ 578.50 µg/100 g ในน้ำผึ้งเงาะ รองลงมาเป็นน้ำผึ้งลิ้นจี่ 237.66 µg/100 g ส่วนสารที่พบเป็นอันดับที่ 1 คือ kaempferol ซึ่งมีปริมาณมากที่สุดในน้ำผึ้งยางพารา 933.48 µg/100 g รองลงมาเป็นน้ำผึ้งลิ้นจี่ 546.22 µg/100 g และสุดท้าย chrysin พบมากที่สุดในน้ำผึ้งนุ่น 94.56 µg/100 g

6. การพัฒนาผลิตภัณฑ์รักษาสิวจากน้ำผึ้ง

6.1 ความสามารถในการละลายของน้ำผึ้ง และกรดซาลิซิลิค (salicylic acid)

หลังจากทดสอบความสามารถในการละลายเพื่อหาตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยดูการละลายของน้ำผึ้งที่ความเข้มข้น 10%, 20% และ 50% พบว่ามีเพียง ethanol เท่านั้นที่เป็นตัวทำละลายได้ไม่ดีเนื่องจากน้ำผึ้งเกิดการตกตะกอนนอนก้นอยู่ด้านล่าง (ตาราง 10) และเมื่อนำ ethanol ไปเจือจางกับน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 2%-10% พบว่าน้ำผึ้งไม่สามารถเข้ากันได้กับ ethanol เนื่องจากพบตะกอน ในทุกความเข้มข้นของน้ำผึ้ง (ตาราง 11) และจากการทดสอบการละลายของ salicylic acid เพื่อนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของตำรับในตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ Propylene glycol (PG) และ Polyethylene glycol (PEG) พบว่า salicylic acid 0.5% ไม่สามารถละลายใน Propylene glycol ได้ (ตาราง 12) แต่สามารถละลายใน Polyethylene glycol ที่ความเข้มข้น 16% ขึ้นไปได้ (ตาราง 13)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 10 ผลความสามารถในการละลายของน้ำผึ้งในตัวทำละลาย 5 ชนิด

ตัวทำละลาย	ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง		
	10%	20%	50%
น้ำ	+	+	+
Ethanol	-	-	-
Propylene glycol	+	+	+
Glycerin	+	+	+
Polyethylene glycol	+	+	+

หมายเหตุ + หมายถึง ละลาย

\- หมายถึง ตกตะกอน

ตาราง 11 ผลความสามารถในการละลายของน้ำผึ้งในตัวทำละลาย Ethanol

ตัวทำละลาย	ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง		
	10%	20%	50%
Ethanol 2%	-	-	-
Ethanol 4%	-	-	-
Ethanol 6%	-	-	-
Ethanol 8%	-	-	-
Ethanol 10%	-	-	-

หมายเหตุ + หมายถึง ละลาย

\- หมายถึง ตกตะกอน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 12 ผลความสามารถในการละลายของ Salicylic acid 0.5% ในตัวทำละลาย Propylene glycol

ตัวทำละลาย	Salicylic acid 0.5%
PG 2%	-
PG 4%	-
PG 6%	-
PG 8%	-
PG 10%	-
PG 12%	-
PG 14%	-
PG 16%	-
PG 18%	-
PG 20%	-

หมายเหตุ + หมายถึง ละลาย

\- หมายถึง ตกตะกอน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 13 ผลความสามารถในการละลายของ Salicylic acid 0.5% (w/v) ในตัวทำละลาย Polyethylene glycol

ตัวทำละลาย	Salicylic acid 0.5% (w/v)
PEG 2%	-
PEG 4%	-
PEG 6%	-
PEG 8%	-
PEG 10%	-
PEG 12%	-
PEG 14%	-
PEG 16%	+
PEG 18%	+
PEG 20%	+

หมายเหตุ + หมายถึง ละลาย

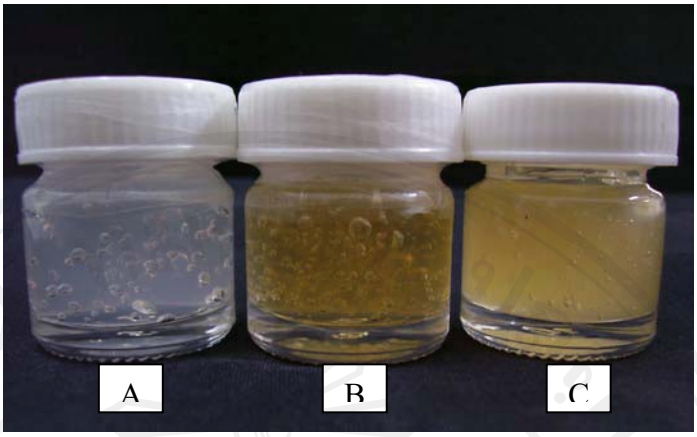
- หมายถึง ตกตะกอน

6.2 ตำรับผลิตภัณฑ์เจลน้ำผึ้ง

จากการทดลองหาสารก่อเจลที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ตั้งตำรับเจลรักษาสิวเป็นเวลา 1 เดือนที่อุณหภูมิห้อง พบว่าสารก่อเจล HPMC, HEC และ SCMC ที่มีส่วนประกอบของน้ำผึ้ง 30% ไม่มีความคงตัวเนื่องจากเจลมีลักษณะเหลวเป็นน้ำและมีตะกอนทั้ง 3 ชนิด

ดังนั้นสารก่อเจลที่นำมาใช้ในการตั้งตำรับคือ carbopol 940 ทั้ง 3 ตำรับ ซึ่งในตำรับที่ 2 มีการเติมน้ำผึ้งลงไปในตำรับ 30% และในตำรับที่ 3 มีการเติมน้ำผึ้งลงไปในตำรับ 30% วิตามิน อี 2% และ salicylic acid 0.5% (ภาพ 4)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4 ลักษณะเจลพื้นและเจลน้ำผึ้ง

A คือ เจลพื้นที่มี carbopol 940 เป็นสารก่อเจล มีลักษณะขาวขุ่นเล็กน้อย

B คือ เจลน้ำผึ้งที่ประกอบด้วยน้ำผึ้ง 30% มีลักษณะเหลืองใส

C คือ เจลน้ำผึ้งที่มีการเพิ่มวิตามิน อี 2% และ salicylic acid 0.5%

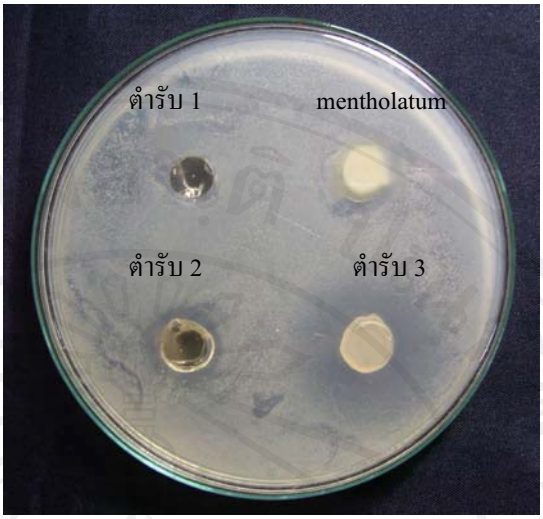
6.3 การศึกษาความคงตัวของตำรับเจลรักษาสิว

หลังจากการทำการทดสอบความคงตัวด้วยวิธีเก็บที่อุณหภูมิร้อนสลับเย็น (heating and cooling or cycling) ทุก 48 ชั่วโมง ทำเช่นนี้อีกเป็นจำนวนทั้งสิ้น 6 รอบ แล้วทำการวัดคุณสมบัติทางกายภาพ นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาคุณลักษณะของเจลที่ได้หลังจากการเก็บเจลไว้ที่อุณหภูมิห้อง 4°C และ 45°C เป็นเวลา 3 เดือนควบคู่ไปด้วย แสดงผลตามตาราง 14 นอกจากนี้ได้เปรียบเทียบความแตกต่างของค่า pH และค่าความหนืดก่อนการทดสอบความคงตัว และหลังทดสอบความคงตัวในการเก็บรักษาที่สภาวะเร่ง และ ในระยะ 3 เดือน โดยใช้สถิติแบบอโนวาทางเดียว (One-way ANOVA) (รสสุคนธ์, 2548)

6.4 ความสามารถในการต้านเชื้อที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว

ในการวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *S. aureus* TISTR 517 และ *P. acnes* DMST 14916 ของเจลน้ำผึ้งที่ผลิตขึ้นโดยเปรียบเทียบกับเจลแต้มสิวที่มีจำหน่ายในท้องตลาดของ mentholatum และใช้ยาปฏิชีวนะ Gentamycin (0.5% w/v) เป็น positive control และน้ำกลั่นเป็น negative control ด้วยวิธี agar well diffusion method แสดงลักษณะการยับยั้งเชื้อดังตัวอย่างภาพ 5 โดยทำการทดสอบเจลหลังเตรียมเสร็จและหลังจากทดสอบความคงตัวได้ผลดังแสดงในตาราง 6-8 (ภาคผนวก จ)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



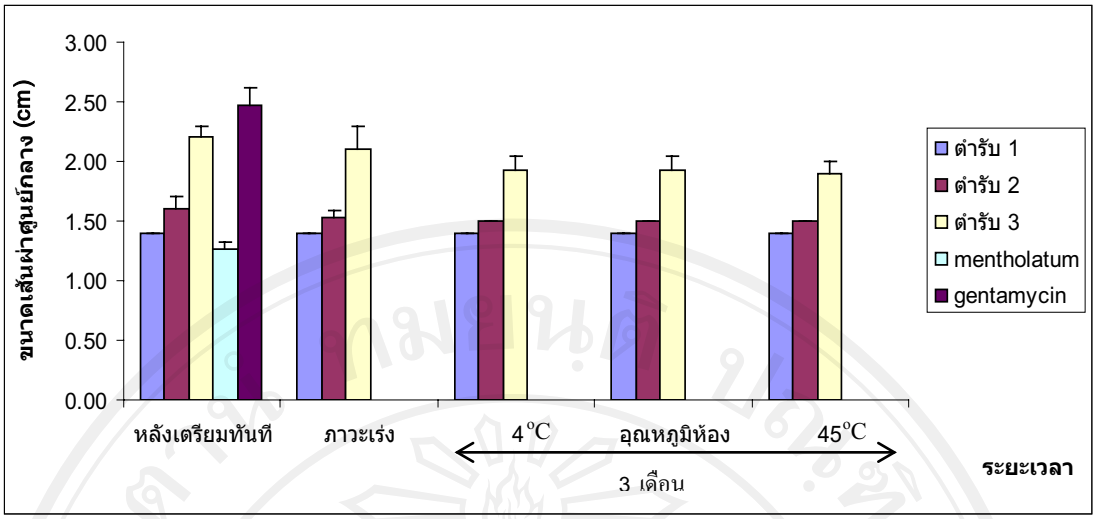
ภาพ 5 แสดงลักษณะการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของเจลตำรับที่ 1, 2, 3 และ mentholatum สังเกตได้จากวงใสที่เกิดขึ้นรอบผลิตภัณฑ์เจล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

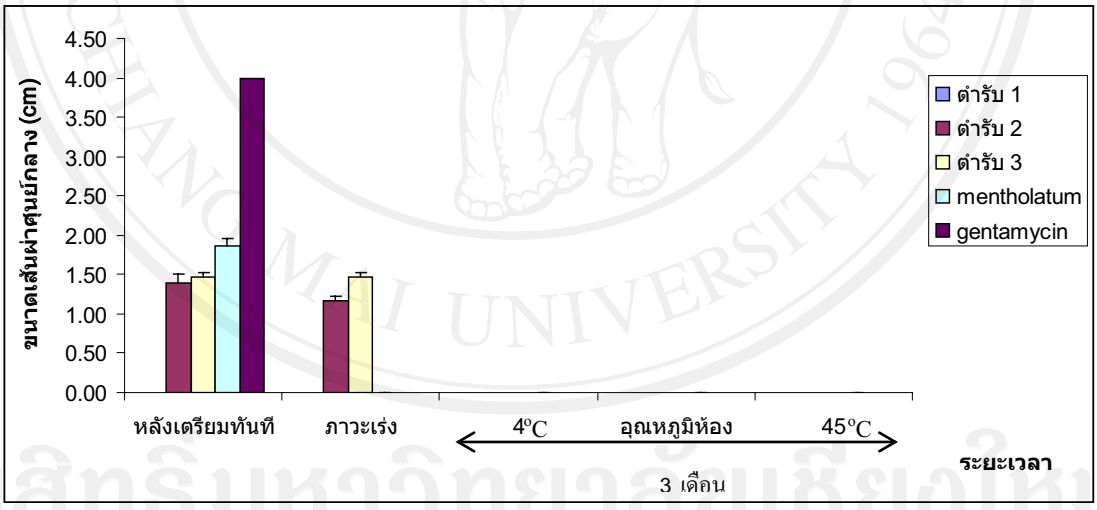
ตาราง 14 คุณลักษณะของตำรับเจลที่เตรียมขึ้นทั้ง 3 ตำรับ หลังจากเตรียมทันที เมื่อผ่านการทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่ง และ เมื่อผ่านการทดสอบความคงตัวในระยะเวลา 3 เดือนที่อุณหภูมิห้อง (25 °C -30 °C) 4°C และ 45°C (n=3)

ตำรับที่	ระยะเวลา	หลังเตรียมทันที	สภาวะเร่ง	3 เดือน		
				อุณหภูมิห้อง (25 °C - 30 °C)	4°C	45°C
1	ลักษณะภายนอก	เจลสีขาวขุ่นเล็กน้อย มีฟองอากาศ ไม่เหนอะหนะ ไม่มีคราบ	ไม่เปลี่ยนแปลง	ไม่เปลี่ยนแปลง	ไม่เปลี่ยนแปลง	สีใสขึ้น
	pH	3.993 ± 0.01	4.077 ± 0.03	4.151 ± 0.01	4.160 ± 0.01	3.959 ± 0.12
	ความหนืด (cP)	7045 ± 0.46	6987 ± 0.24	6422 ± 0.64	6050 ± 0.23	25421 ± 0.92
2	ลักษณะภายนอก	เจลสีเหลืองใส มีฟองอากาศ มีกลิ่นของน้ำผึ้ง เหนอะหนะเล็กน้อย ไม่มีคราบ	สีเข้มขึ้นเล็กน้อย	ไม่เปลี่ยนแปลง	ไม่เปลี่ยนแปลง	สีเข้มขึ้น ไม่พบฟองอากาศ มีกลิ่นเปลี่ยนไป
	pH	3.987 ± 0.01	4.127 ± 0.01	4.139 ± 0.02	4.132 ± 0.01	4.155 ± 0.01
	ความหนืด (cP)	10500 ± 0.21	16775 ± 1.62	13679 ± 0.45	12031 ± 0.65	49183 ± 0.70
3	ลักษณะภายนอก	เจลสีเหลืองขุ่น มีฟองอากาศ มีกลิ่นของน้ำผึ้ง เหนอะหนะ ไม่มีคราบ	กลิ่นเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย	ไม่พบฟองอากาศ	ไม่พบฟองอากาศ	สีเข้มขึ้น ไม่พบฟองอากาศ มีกลิ่นเปลี่ยนไป
	pH	3.443 ± 0.00	3.706 ± 0.01	3.798 ± 0.07	3.707 ± 0.01	3.737 ± 0.03
	ความหนืด (cP)	5877± 0.44	6612 ± 2.27	6087 ± 0.91	7892 ± 0.36	10389 ± 3.48

หมายเหตุ วัดความหนืดโดยใช้เครื่องมือที่มีชื่อว่า Brookfield (Rheometer, version 2.8)



ภาพ 6 ความสามารถในการยับยั้ง *S. aureus* ของเจลตำรับต่าง ๆ เทียบกับเจล mentholatum โดยมียาปฏิชีวนะ gentamycin 0.5% (w/v) เป็น positive control หลังเตรียมทันที ในภาวะเร่ง และระยะเวลา 3 เดือน



ภาพ 7 ความสามารถในการยับยั้ง *P. acnes* ของเจลตำรับต่าง ๆ เทียบกับเจล mentholatum โดยมียาปฏิชีวนะ gentamycin 0.5% (w/v) เป็น positive control หลังเตรียมทันที ในภาวะเร่ง และระยะเวลา 3 เดือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved