

บทนำ

ปัญหาที่ทำวิจัยและความสำคัญของปัญหา

ผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ (ฟังก์ชันนัลฟู้ดส์, Functional Foods.) มีคำจำกัดความที่ได้รับการยอมรับจากนักวิชาการ ว่าเป็นอาหารที่นอกจะให้รสสัมผัส (sensory Function) และให้คุณค่าทางอาหารที่จำเป็นต่อร่างกาย (Nutritive Function) แล้วยังให้คุณค่าหรือทำหน้าที่อื่น ๆ (Non-nutritive Physical Function) ให้แก่ร่างกายได้อีกเช่น การปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย การปรับปรุงระบบและสภาพการทำงานของร่างกาย เป็นต้น (ไพโรจน์, 2553) ซึ่ง Hasler (2000) ได้กล่าวไว้ว่า ไข่สามารถเป็นฟังก์ชันนัลฟู้ดส์ แบบธรรมชาติได้อย่างดีเนื่องจากไข่มีโปรตีนคุณภาพสูงเช่น โคเลสเตอรอลที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับระบบประสาทการจดจำหรือเป็นแหล่ง Zeaxanthin และ Carotenoid ที่ช่วยลดความเสี่ยงการเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับดวงตาที่มากับการสูงวัย ดังนั้นน้ำผึ้งก็น่าจะจัดเป็นฟังก์ชันนัลฟู้ดส์ได้เนื่องจาก มีการใช้ประโยชน์มาตั้งแต่โบราณในทุกส่วนของโลก ด้วยความเชื่อถึงสรรพคุณทางยาและคุณค่ามากมายในตำรายาแผนโบราณของไทย มีการใช้น้ำผึ้งมาทำอายุวัฒนะ (ตำราแพทยศาสตร์สงเคราะห์, 2541) เนื่องจากมีสรรพคุณช่วยบำรุงกำลัง บำรุงแร่ธาตุและอื่น ๆ อีกมากมาย หากมีการวิเคราะห์องค์ประกอบในทางโครงสร้างของน้ำผึ้งแล้ว น้ำผึ้งมีองค์ประกอบหลักคือ มีน้ำอยู่ประมาณร้อยละ 20 มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวคือ กลูโคสและฟรุกโตสรวมกันไม่ต่ำกว่าร้อยละ 60 นอกจากนี้ก็จะมีน้ำตาลอื่นๆ เช่นซูโครส มอลโตสฯ ซึ่งเป็นน้ำตาลที่สามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายและนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่าย นอกจากนี้ น้ำผึ้งยังมีโปรตีน กรดอะมิโนและกรดอินทรีย์ต่างๆ เช่น กรดกลูโคโนิก แร่ธาตุ เช่น แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียมฯ วิตามินบีและซี (ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพเกษตรจังหวัด จันทบุรี (ผึ้ง), 2546) นอกจากนี้ปัจจุบันมีรายงานมากมายที่กล่าวถึงการพบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และสารประกอบโพลีฟีนอล (Phenolic acid) ซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์และพบเอนไซม์บางชนิดเช่น glucose oxidase และ catalase ที่มีสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในน้ำผึ้ง (Gomez-caravaca, 2006)

ในต่างประเทศโดยเฉพาะประเทศในทวีปยุโรปจะนิยมการบริโภคน้ำผึ้งที่มีการผลิตจำเพาะดอกไม้ (Specific monofloral honey) ซึ่งมีการซื้อขายในราคาที่แพงกว่าน้ำผึ้งที่ได้จากดอกไม้หลายๆ ชนิดรวมกัน (Mixed botanical sources) เพราะนอกจากผู้บริโภคจะได้รับคุณค่าทางโภชนาการและประสาทสัมผัสด้าน รส กลิ่น สี ที่แตกต่างกันแล้วยังได้รับคุณค่าทางยาที่แตกต่างกันไปอีกด้วย (Donarski, et.al. 2010) Lee, et.al. (2008) รายงานถึงการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ต่างกันของน้ำผึ้งที่มาจากดอกไม้ต่างชนิดกันซึ่ง Allen, et. al.(1991) ได้แสดงถึงน้ำผึ้งมานูกา (manuka honey) ซึ่งผลิตจากต้น *Leptospermum scoparium* (Myrta ceae) มีประสิทธิภาพสูงสุดในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำผึ้งจากดอกไม้จำเพาะชนิดในประเทศนิวซีแลนด์ และ Weston (2000) รายงานว่าน้ำผึ้งมานูกาที่มาจากพื้นที่ที่แตกต่างกันมีระดับของการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ไม่เท่ากัน และการเปรียบเทียบองค์ประกอบของน้ำผึ้งจากดอกกลาไยและดอกเกาะกับน้ำผึ้งชันโรงของ Sawatthum (2008) พบว่าน้ำผึ้งจากดอกเกาะมีแร่ธาตุต่างๆเช่น เหล็ก แคลเซียม แมกนีเซียมฯสูงกว่าน้ำผึ้งจากดอกกลาไย ในการซื้อขาย

น้ำผึ้งนั้นกลุ่มประเทศสหภาพยุโรปกำหนดให้แสดงพื้นที่ในการผลิตน้ำผึ้งลงบนบรรจุภัณฑ์ (Kelly et.al.,2005 และ <http://www.fao.org/docrep/fao/012/i0842016.pdf>) เช่นเดียวกับการกำหนดสิ่งบ่งชี้ของภูมิศาสตร์แก่ผลิตภัณฑ์

ดังนั้นการศึกษาลักษณะทั่วไป ลักษณะทางเคมีและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งเฉพาะชนิดของไทย จึงเป็นข้อมูลที่จะสามารถนำมาใช้ประกอบให้แก่ น้ำผึ้งในลักษณะฟังก์ชันนัลฟู้ดส์จากธรรมชาติ เช่นเดียวกับไข่ เช่น หากมีการทดลองยืนยันการทดลองของ Sawatthum (2008) น้ำผึ้งงาจะก็เหมาะสำหรับผู้หญิงเนื่องจากมีเหล็กในปริมาณสูงและข้อมูลเบื้องต้นจาก Uraiwan et.al. (2009) ก็แสดงให้เห็นว่าน้ำผึ้งงามีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าน้ำผึ้งชนิดอื่น ผลการทดลองนี้จึงเป็นข้อมูลไม่เพียงใช้ในการจำแนกชนิดน้ำผึ้งให้เกษตรกร เพื่อให้เกษตรกรไทยขายน้ำผึ้งในลักษณะ monofloral honey คล้ายการกำหนดสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ที่มีราคาแพงได้ แล้วยังเป็นข้อมูลเพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่ น้ำผึ้งแต่ละชนิด เป็นทางเลือกให้ผู้บริโภคได้เลือกบริโภคน้ำผึ้งตามสมบัติของน้ำผึ้งที่ผู้บริโภคต้องการ หรือนำมาสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากน้ำผึ้งไปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพต่อไปได้อีก ซึ่งในการทดลองนี้ได้เลือกผลิตภัณฑ์ตัวอย่างคือ การผลิตลูกอมน้ำผึ้งที่เหมาะสมกับผู้ป่วยเบาหวาน ในภาวะขาดแคลนน้ำตาลโดยไม่มีผลต่อระดับกลูโคสในเลือดและอินซูลิน (สุวรรณ, 2543) ซึ่งลูกอมน้ำผึ้งนี้จะให้ผลดีต่อผู้ป่วยเบาหวานมากกว่าลูกกวาดที่ทำด้วยซูโครสทั่วไปและการใช้สารทดแทนความหวานที่มีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาลักษณะทั่วไปของน้ำผึ้งไทย สำหรับใช้ในการจำแนกชนิดน้ำผึ้ง (monofloral honey)
2. ศึกษาลักษณะทางเคมีของน้ำผึ้งไทย
3. เปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้งไทย
4. เปรียบเทียบความเหมาะสมของน้ำผึ้งแต่ละชนิดในการผลิตลูกอมน้ำผึ้งเพื่อสุขภาพ

ตรวจเอกสาร

ผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ หรือ ฟังก์ชันนัลฟู้ดส์ (Functional Foods.)

หน้าที่พิเศษของผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ (ฟังก์ชันนัลฟู้ดส์, Functional Foods.) นั้นมีหลายอย่างพอสรุปได้เป็นกลุ่มๆได้ดังนี้

1. ปรับปรุงภูมิคุ้มกันของร่างกาย
2. ปรับปรุงระบบและสภาพการทำงานของร่างกาย
3. ชะลอการเสื่อมโทรมของอวัยวะต่างๆจากการสูงอายุ
4. ป้องกันโรคต่างๆที่อาจเกิดขึ้นจากภาวะโภชนาการผิดปกติ
5. บำบัดหรือลดอาการของโรคที่เกิดจากความผิดปกติของร่างกาย

โดยสารที่ก่อให้เกิดหน้าที่ดังกล่าวเรียกว่า Physiologically Active Components หรือ Functional ingredients ซึ่งประเทศญี่ปุ่นได้พัฒนาผลิตภัณฑ์เหล่านี้มาก่อนประเทศอื่น ได้กำหนดลักษณะจำเพาะของผลิตภัณฑ์อาหาร Functional Foods ไว้ดังนี้

1. ต้องมีสภาพทางกายภาพเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่แท้จริงคือไม่อยู่ในรูปแคปซูล หรือ เป็นผงเหมือนยา และ

เป็นอาหารที่ได้หรือดัดแปลงจากวัตถุดิบตามธรรมชาติ

2. สามารถบริโภคเป็นอาหารได้เป็นประจำไม่มีข้อจำกัดเหมือนยาคือ บริโภคได้ไม่จำกัดปริมาณและสถานที่

3. มีส่วนประกอบที่ได้ผลโดยตรงในการเสริมการทำงานของระบบต่างๆ ในร่างกาย และป้องกันโรคได้

จากลักษณะพิเศษทั้งสาม ผลิตภัณฑ์จึงต้องมีกรรมวิธีการผลิตที่ดีถูกสุขอนามัยเป็นที่ยอมรับและมีประสิทธิภาพในแง่ของคุณภาพและความปลอดภัย โดยอยู่บนพื้นฐานของข้อมูลการวิจัย เพราะต้องมีการระบุชนิด และปริมาณของสารประกอบที่ให้ผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภค

Functional ingredients ที่สำคัญ และนิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบัน ได้แก่

- เส้นใยอาหาร (Dietary Fiber) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ เช่น ผลิตภัณฑ์ขนมอบเสริมเส้นใยอาหาร
- น้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligo saccharides) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ เช่น ขนมขบเคี้ยวเสริมโอลิโกแซคคาไรด์ผลิตภัณฑ์ลูกกวาด

- เกลือแร่ต่าง ๆ เช่น แคลเซียม เหล็กตัวอย่างผลิตภัณฑ์ เช่น นมผง อาหารสำเร็จรูปเสริมแคลเซียม

ประเทศไทยมีการนำเข้าผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพต่อปีเป็นจำนวนมาก การส่งเสริมการวิจัย และพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพอย่างกว้างขวาง เพื่อสร้างศักยภาพและความสามารถในการใช้วัตถุดิบภายในประเทศ มาทำผลิตภัณฑ์ดังกล่าว เพื่อลดการนำเข้าป้องกันเงินตราออกสู่ต่างประเทศ จึงมีความจำเป็น (ไพโรจน์, 2553)

แม้โดยทั่วไปน้ำผึ้งจะประกอบไปด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว กลูโคส และฟรุกโตส เป็นหลัก (White, 1978) แต่ก็มีมีการตรวจพบน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ จำนวนมาก (Siddiqui and Furgala, 1968)

นอกจากนี้ น้ำผึ้งยังประกอบด้วยแร่ธาตุหลายชนิด เช่น Fe, Ca, Mg, Mn, Cu, Pb, Na และ P (Crane, 1976, Sawatthum, 2008) โดย Rshed and Soltanin (2004) ได้รายงานว่ ปริมาณของแร่ธาตุในน้ำผึ้งขึ้นอยู่กับชนิดของดอกไม้ที่ผึ้งใช้เป็นอาหาร

น้ำผึ้งที่มีลักษณะจำเพาะที่แสดงให้เห็นถึงแหล่งที่มาว่าได้จากดอกไม้จำเพาะชนิด จะมีลักษณะทางกายภาพ สี กลิ่น รส ที่แตกต่างกัน การตลาดน้ำผึ้งในระดับนานาชาติได้กำหนดลักษณะฉลากที่ดึงดูดลูกค้าได้ดี ควรมีการแสดงถึงสถานที่ในการผลิต หรือชนิดของพืชที่ให้น้ำหวานที่ชัดเจนเพื่อเพิ่มความมั่นใจให้แก่ลูกค้า (<http://www.fao.org/docrep/fao/012/i0842016.pdf>) และน้ำผึ้งเหล่านี้ก็จะมีการซื้อขายที่ราคาสูงกว่าน้ำผึ้งที่ไม่มีข้อมูลดังกล่าว

การจำแนกชนิดของน้ำผึ้งโดยทั่วไป ใช้วิธีการวิเคราะห์เรณู โดยใช้เกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดว่าหากน้ำผึ้งดอกไม้ชนิดใดต้องมีเรณูของพืชนั้นมากกว่าร้อยละ 45 ของเรณูทั้งหมดในน้ำผึ้ง ทั้งนี้เกณฑ์จะแปรผันตามชนิดของการให้ละอองเรณูของพืชแต่ละชนิดด้วย ดังนั้นการกำหนดชนิดของน้ำผึ้งจากดอกไม้เฉพาะชนิดของไทยเพื่อความเหมาะสมจึงจำเป็นต้องศึกษาหามาตรฐานของพืชไทยขึ้นมาใช้เอง (Crane, 1976)

นอกจากนี้ เนื่องจากน้ำผึ้งมีน้ำตาลประเภทต่าง ๆ เป็นองค์ประกอบมาก ซึ่งสัดส่วนน้ำตาลที่มีกลูโคสมากกว่าน้ำตาลอื่น ๆ ในน้ำผึ้ง จะทำให้น้ำผึ้งตกผลึก (Crystallization) ได้ง่าย (Crane, 1976) ซึ่งก่อให้เกิดความเข้าใจผิดแก่ผู้บริโภคโดยคิดว่าการปลอมปนน้ำผึ้งของไทยหลายชนิดก็มีลักษณะตกผลึกได้ง่ายแม้ในอุณหภูมิห้อง เช่น น้ำผึ้งทานตะวัน (Sawatthum, et. al 2009) แต่น้ำผึ้งลิ้นจี่ ยางพาราที่ตกผลึกได้ง่ายเช่นกันในสภาพที่อุณหภูมิต่ำ Lipp (1994) ได้กล่าวไว้ว่า สาเหตุของการตกผลึกมีได้หลายสาเหตุเช่น อุณหภูมิ ปริมาณน้ำในน้ำผึ้ง เป็นต้น

การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้ง

ในปัจจุบันพบว่า อีออน ที่เป็นอนุมูลอิสระซึ่งเกิดขึ้นในร่างกายนั้นมีสาเหตุของการเกิดจากหลาย ๆ สาเหตุ ทั้งจากปัจจัยภายในและภายนอกร่างกาย ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย มีผลทำให้เซลล์ของร่างกายถูกทำลาย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง เป็นต้น หรือแม้แต่เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรค กลไกหนึ่งที่สามารถปกป้องเซลล์สิ่งมีชีวิตจากอนุมูลอิสระได้ คือ สารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถเข้าไปชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย ตลอดจนช่วยป้องกันและลดการติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรค โดยสารต้านการเกิดออกซิเดชันนั้น จะมีทั้งที่ร่างกายสามารถสร้างขึ้นเองได้ และสารต้านการเกิดออกซิเดชันที่มาจากแหล่งภายนอกร่างกาย เช่น สารพฤษเคมี ที่พบมากในพืชหรือผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ซึ่งจากการศึกษาวิจัยองค์ประกอบสำคัญในน้ำผึ้งนั้น พบว่า ในน้ำผึ้งมีสารสำคัญ เป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ และสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และยังมีเอนไซม์ glucose oxidase และ catalase ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ดังนั้นการบริโภคอาหารหรือผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เช่น น้ำผึ้ง ซึ่งมีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และมีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค จึงเป็นการเพิ่มความเข้มแข็งให้กับร่างกาย และเป็นการเสริมความสามารถ

ให้กับกลไกของร่างกายในการปกป้องเซลล์ ตลอดจนเป็นการช่วยลดการเกิดโรคจากการติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคชนิดต่างๆ ได้

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งของจังหวัดเชียงใหม่ เมื่อทดสอบด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals (DPPH) และวิธี ABTS assay พบว่า ในน้ำผึ้งความเข้มข้น 0.5 g/ml มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 32-44 และ 94-97 ตามลำดับ ค่า IC_{50} ของน้ำผึ้ง เท่ากับ 0.5-0.94 g/ml และ 0.1-0.19 g/ml ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล เท่ากับ 100-144 mg GAE/100 g ของน้ำผึ้ง (Supaporn, 2008) และมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งของประเทศจอร์แดน ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals (DPPH) พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งเทียบเป็นกรัมสมมูลกับสารมาตรฐานแคททิซิน เท่ากับ 21.5-21.8 mg CAE/100 g และนอกจากนั้นยังพบว่าในน้ำผึ้งมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 7.4-106 μ g/g ของน้ำผึ้ง (O.M. Atrooz, 2008)

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคของน้ำผึ้งจากประเทศเวเนซุเอล่า ทดสอบกับแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ แบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีปัญหาการดื้อต่อยาปฏิชีวนะ และแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 25922 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มักเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารและลำไส้ ผลการศึกษาวิจัยพบว่าน้ำผึ้งมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. aureus* และ *E. coli* และค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของน้ำผึ้งที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (MIC) เท่ากับ 25.0-50.0 g/100 ml ของน้ำผึ้ง นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำผึ้งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเป็นกรัมสมมูลกับสารมาตรฐาน Trolox เท่ากับ 34.90-203.21 μ mol TAE/100 g และมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์เทียบเป็นกรัมสมมูลกับสารมาตรฐานแคททิซิน เท่ากับ 2.32-14.41 mg EQ/100 g ของน้ำผึ้ง และมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล เท่ากับ 38.15-182.10 mg GAE/100 g ของน้ำผึ้ง และมีปริมาณวิตามินซี เท่ากับ 12.86-37.05 mg/100 g ของน้ำผึ้ง (Patricia, 2009) และนอกจากนั้นยังมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคของน้ำผึ้งจากประเทศอียิปต์ ทดสอบกับแบคทีเรีย 6 ชนิด ที่แยกได้จากแผลติดเชื้อ (infected wound) ของผู้ป่วยแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก (burn-wound) คือ แบคทีเรีย *Aeromonas schubertii*, *Haemophilus paraphrohaemlyticus*, *Micrococcus luteus*, *Cellulosimicrobium cellulans*, *Listonella anguillarum*, และ *Acinetobacter baumannii* ผลการศึกษาวิจัยพบว่าน้ำผึ้งมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด และค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของน้ำผึ้งที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (MIC) เท่ากับ 30-40 % v/v นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำผึ้งมีผลทำให้ปริมาณไขมันรวม (Total lipid) ของแบคทีเรียลดลงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$ (Saadia M. Hassanein, 2010) นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะของน้ำผึ้งจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ทดสอบกับแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* 42D, *Escherichia coli* ML-35p, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15692 และแบคทีเรียดื้อยาปฏิชีวนะ 4 ชนิด ที่แยกได้จากผู้ป่วยแผลติดเชื้อ คือ แบคทีเรีย methicillin - resistant *S. aureus* (MRSA), vancomycin - resistant *Enterococcus faecium* (VREF), extended - spectrum beta - lactamase-producing *E. coli* (*E. coli* ESBL) และ ciprofloxacin - resistant *P. aeruginosa* (CRPA) ผลการ

ศึกษาวิจัยพบว่า น้ำผึ้งมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของน้ำผึ้งที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (MIC) เท่ากับ 10-20 % v/v และยังพบว่าในน้ำผึ้งมีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เท่ากับ 5.62 ± 0.54 mM และมีปริมาณสารเมทิลไกลออกซอล (Methylglyoxal, MGO) เท่ากับ 0.25 ± 0.01 mM นอกจากนี้ยังพบว่าในน้ำผึ้งมีโปรตีน defensin - I ซึ่งมีขนาดน้ำหนักน้อยกว่า 5 กิโลดาลตัน แต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ (Paulus H.S. Kwakman, 2010)

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้งเพื่อสุขภาพ

การพัฒนาอุตสาหกรรมลูกกวาดในปัจจุบัน จะมุ่งเน้นในการแก้ปัญหาด้านสุขภาพและโภชนาการซึ่งปัญหาที่พบได้แก่ โรคฟันผุ โรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคหัวใจ และการทำให้สารอาหารเจือจาง อีกทั้งยังมีปัญหาทางด้านสังคม ในขณะเดียวกันผู้บริโภคยังรู้สึกว่าการบริโภคลูกกวาด ยังเป็นสาเหตุของฟันผุ กินแล้วจะอ้วน สรุปว่าเป็นของไม่ดี ไม่ควรบริโภค การพัฒนาในปัจจุบันของอุตสาหกรรมลูกกวาดจึงมุ่งเน้นไปที่การใช้สารทดแทนน้ำตาลซูโครสในผลิตภัณฑ์ลูกกวาด เพื่อลดปัญหาทางด้านฟันผุ ลดปริมาณแคลอรี และเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ ซึ่งสามารถแบ่งสารให้ความหวานที่ไม่ใช่ น้ำตาลได้เป็น 2 กลุ่มหลัก คือ สารให้ความหวานที่ใช้ในปริมาณมากเนื่องจากสารให้ความหวานในกลุ่มนี้ จะมีความหวานน้อยกว่าหรือเท่ากับน้ำตาลซูโครส และสารให้ความหวานที่ใช้ในปริมาณน้อยเนื่องจากสารให้ความหวานในกลุ่มนี้ จะมีความหวานมากกว่าน้ำตาลซูโครสหลายพันเท่า ซึ่งในการผลิตผลิตภัณฑ์ลูกกวาดพบว่า ตัวเนื้อผลิตภัณฑ์ลูกกวาดเป็นน้ำตาล อีกทั้งสารให้ความหวานทดแทนน้ำตาลยังมีผลเสียต่อผู้บริโภคบางกลุ่ม และมีการอนุญาตให้ใช้สารให้ความหวานที่ไม่ใช่ น้ำตาลได้เพียงบางผลิตภัณฑ์เท่านั้น (สุวรรณ, 2543)

ผลิตภัณฑ์ลูกกวาดสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท คือ ผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบสำคัญ (sugar confections) เช่น ลูกกวาด เป็นต้น ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบสำคัญ (chocolate confections) เช่น ช็อกโกแลต เป็นต้น และผลิตภัณฑ์ที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบสำคัญ (flour confections) โดยผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้อาจจัดเป็นผลิตภัณฑ์ขนมอบก็ได้ ส่วนใหญ่จะไม่ถือเป็นผลิตภัณฑ์ในกลุ่ม confection หรือ confectionery โดยที่ผลิตภัณฑ์กลุ่มหลักที่นิยมใช้ในการผลิตยาเพื่อใช้ในการรักษาโรค คือ ผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบสำคัญ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ในกลุ่มที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบหลักจะมีปริมาณไขมันมากเกินไปไม่เหมาะที่จะนำมาทำการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ลูกกวาดที่ใช้ในการรักษาโรค (รัตติกร, 2544; สุวรรณ, 2543)

ผลิตภัณฑ์ลูกกวาดที่ใช้ในการรักษาโรคส่วนใหญ่ ใช้ในการรักษาอาการระคายคอ แก้ไอ ใช้หัด ระบบการหายใจ และภูมิแพ้ โดยที่สารออกฤทธิ์ทางยาที่นิยมใช้เป็นพวกสมุนไพร วิตามิน สารเสริมอาหาร และสารลดกรด เป็นต้น ซึ่งได้แก่ โป๊ยกั๊ก การบูร อบเชย กานพลู จิง ชะเอมเทศ มะกรูด และน้ำผึ้ง เป็นต้น โดยนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ ลูกกวาดเนื้อแข็ง ลูกกวาดเนื้อนุ่ม ผลิตภัณฑ์ลูกกวาดที่มีฟองอากาศ (มาร์ชเมลโลว์) ผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นรูปขึ้นรูปโดยใช้แรงบีบอัด (ลูกอมหรือเม็ดอม) และหมากฝรั่ง เป็นต้น ซึ่งจะมีข้อจำกัดในกระบวนการผลิตเพื่อให้คุณสมบัติทางยาในผลิตภัณฑ์ยังคงอยู่ ซึ่งองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา จะ

ระวังอย่างมากในการอนุญาตในเรื่องของการเติมสารอาหารลงไปในการ และได้ประกาศว่าไม่เห็นด้วยที่จะเพิ่มคุณค่าอาหารให้กับผลิตภัณฑ์ลูกกวาดและขนมขบเคี้ยวต่างๆ แต่ในปี พ.ศ. 2537 ได้เห็นชอบและประกาศให้อาหารหรือสารอาหารบางชนิดที่มีสรรพคุณทางยาสามารถใช้กับผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้ได้ ซึ่งน้ำผึ้งที่เป็นวัตถุดิบหลักชนิดที่ 3 รองจากน้ำตาลซูโครสและกลูโคสซีรัป ที่นิยมเติมลงไป โดยปกติจะนิยมเติมลงไปประมาณร้อยละ 8 - 10 เนื่องจากจะมีผลต่อลักษณะปรากฏ โดยเฉพาะสี และความคงตัวของผลิตภัณฑ์ (สุวรรณ, 2543; Jackson, 1990)

ในปัจจุบันมีการใช้น้ำผึ้งเป็นสารออกฤทธิ์ทางยาเพื่อให้ชุ่มคอ รักษาอาการเจ็บคอซึ่งส่วนใหญ่ทำเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปของ เม็ดอม ลูกกวาดเนื้อแข็ง และลูกกวาดสอดไส้ โดยปัญหาที่พบในการนำผึ้งไปผลิตเป็นลูกกวาดเนื้อแข็ง ได้แก่ ในน้ำผึ้งมีปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอยู่สูง มีผลทำให้เมื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เสร็จแล้วส่งผลให้เกิดการดูดความชื้นทำให้อายุการเก็บของผลิตภัณฑ์สั้นลง อีกทั้งน้ำผึ้งมีความหนืดสูง จะมีผลกระทบต่อการบวนการผลิตในช่วงระหว่างการขึ้นรูป และน้ำผึ้งมีจุดเดือดสูงกว่ากลูโคสซีรัปทำให้ต้องใช้อุณหภูมิในการผลิตสูงขึ้นกว่าเดิม 1 - 2 องศาเซลเซียส โดยที่ต้องใช้เวลาในการระเหยน้ำขึ้นเพื่อให้ได้ปริมาณของแข็งทั้งหมดเท่าเดิม ซึ่งเหตุผลดังที่กล่าวมามีผลทำให้สามารถเติมน้ำผึ้งได้เพียงร้อยละ 5 เท่านั้น ส่วนการผลิตลูกกวาดสอดไส้ ต้องมีการป้องกันไม่ให้ไส้ที่อยู่ภายในลูกกวาดเกิดการตกผลึก อีกทั้งยังจำเป็นที่รักษาสถานะของน้ำผึ้งให้เป็นของเหลวตลอดเวลาโดยมีการควบคุมปริมาณของแข็งทั้งหมดให้อยู่ในช่วงร้อยละ 84 - 86 และจำเป็นต้องมีการลดความหนืดของน้ำผึ้งก่อนที่จะนำมาใช้เป็นไส้ก่อน เนื่องจากมีผลต่อความคงตัว และอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ โดยการผลิตลูกอมหรือเม็ดอมจากน้ำผึ้งยังมีความปลอดภัยและคุณค่าทางโภชนาการอยู่ครบถ้วน (Jackson, 1990)

ผลิตภัณฑ์ลูกกวาดที่ขึ้นรูปโดยใช้แรงบีบอัด เป็นผลิตภัณฑ์ลูกกวาดที่ไม่มีการให้ความร้อนเพื่อละลายน้ำตาลซูโครสในกระบวนการผลิต โดยเรียกผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้ว่า non-boiled sugar confections ซึ่งประกอบไปด้วยผลิตภัณฑ์ที่ต้องขึ้นรูปโดยใช้แรงบีบอัดเพื่อให้น้ำตาลซูโครสเม็ดเล็กๆ เกาะติดกันแน่นโดยมีสารเชื่อมเป็นตัวประสาน (pressed sweets) ซึ่งมี 2 ชนิด คือ ลูกอมแบบตอกเม็ด (Tablets) และลูกอมแบบใช้พิมพ์กดขึ้นรูป (Lozenges) ซึ่งลูกอมชนิดนี้วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตคือ น้ำตาลป่นหรือน้ำตาลไอซิ่ง ซึ่งถ้ามีเนื้อละเอียดจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสที่ดี ถ้าน้ำตาลที่ใช้มีเนื้อที่หยาบผลิตภัณฑ์ที่ได้จะไม่ดีตามไปด้วย ซึ่งการยึดเกาะกันของน้ำตาลจำเป็นต้องมีสารเชื่อม (binder) เป็นตัวประสานเพื่อให้ผลิตภัณฑ์คงรูปอยู่ได้ ตัวเชื่อมที่นิยมใช้ได้แก่ กัมอารบิก เจลาติน กัมทราคาแคนท์ (สุวรรณ, 2543; Jackson, 1990; Edwards, 2000)

สารออกฤทธิ์ทางยาที่นิยมผลิตเป็นลูกอม (Lozenges) มากกว่าที่จะผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ลูกกวาดชนิดอื่นๆ ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะมีรสขมทำให้มีการแต่งกลิ่นรสลงไปด้วยกลิ่นรสจากผลไม้ หรือน้ำผึ้ง การผลิตลูกอม ส่วนการผลิตลูกอมจากน้ำผึ้ง (Lozenges) สามารถทำได้ง่ายกว่า เป็นการผลิตลูกกวาดที่ใช้ความร้อนไม่สูงมาก ทำให้อายุการเก็บรักษาของน้ำผึ้งยังอยู่ครบ อีกทั้งยังมีงานวิจัยของ Turkmen et al. (2006) พบว่า การนำน้ำผึ้งไปให้ความร้อนในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 50 - 70 องศาเซลเซียส นานถึง 12 วัน มีผลทำให้เกิดปฏิกิริยาน้ำตาลสูงขึ้นตามอุณหภูมิที่ใช้ในการให้ความร้อนสูงขึ้น และมีผลทำให้ค่ากิจกรรมการเกิดสารต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น

วิธีการดำเนินการ

การเก็บตัวอย่างน้ำผึ้ง

คัดเลือกเกษตรกรผู้เลี้ยงที่เชื่อถือได้ ในกระบวนการเลี้ยงเพื่อให้ได้ตัวแทนที่ดีของน้ำผึ้งเฉพาะชนิด เพื่อนำมาวิเคราะห์ลักษณะจำเพาะและหาแนวทางวางมาตรฐานของน้ำผึ้งเฉพาะชนิดของไทย คือ น้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งทานตะวัน น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งยางพารา โดยมีพื้นที่ของการเก็บน้ำผึ้ง ดังนี้

น้ำผึ้งลำไย	จาก	จังหวัดลำพูนและเชียงใหม่
น้ำผึ้งทานตะวัน	จาก	จังหวัดสระบุรีและลพบุรี
น้ำผึ้งสาบเสือ	จาก	จังหวัดเชียงรายและแพร่
น้ำผึ้งยางพารา	จาก	จังหวัดชุมพรและสุราษฎร์ธานี

การวิจัยแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ

1. การศึกษาลักษณะทั่วไป และการจำแนกชนิดและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำผึ้ง

การศึกษาลักษณะทั่วไป เป็นการศึกษาลักษณะตามมาตรฐานของน้ำผึ้งโดยใช้ลักษณะตามมาตรฐานคุณภาพอาหารและยาดังนี้

ลักษณะกลิ่น และรสเฉพาะน้ำผึ้ง สี ความชื้น เถา ค่าความเป็นกรด ค่าไดแอสเตสแอกติวิตี (Diastase activity) ค่าไฮดรอกซีเมทิลเฟอรฟ์ิวรัล (Hydroxymethylfurfural) ปริมาณยีสต์/รา สารปฏิชีวนะ โลหะหนัก (สารหนูและตะกั่ว) ลักษณะทางเคมี ปริมาณไนโตรเจน โปรตีนทั้งหมด แร่ธาตุ วิตามินต่าง ๆ ลักษณะที่ใช้ในการจำแนกชนิดน้ำผึ้ง ใช้วิธีการวิเคราะห์เรณูในน้ำผึ้งที่เป็นตัวแทนจากเกษตรกรที่เชื่อถือได้เปรียบเทียบกับน้ำผึ้งในท้องตลาด

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการศึกษาลักษณะทั่วไป และการจำแนกชนิดและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำผึ้ง

การศึกษาลักษณะตามมาตรฐานของน้ำผึ้ง โดยใช้ลักษณะตามมาตรฐานคุณภาพอาหารและยา โดยศึกษา ความหวาน ความชื้น ความเป็นกรดต่าง (pH) ปริมาณกรดทั้งหมด ค่าความนำไฟฟ้า (EC) ปริมาณยีสต์/รา ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณเถ้าทั้งหมด ค่าไดแอสเตสแอกติวิตี ค่าไฮดรอกซีเมทิลเฟอรฟ์ิวรัล (HMF) ได้แสดงในตารางที่ 1 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า น้ำผึ้งแต่ละชนิดมีสมบัติต่างๆ อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานขององค์การอาหารและยา (ภาคผนวก) โดยมี ความหวานที่แสดงเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ของ Total Soluble Solid ที่ใกล้เคียงกัน คือ อยู่ระหว่าง 69.8 – 80.0 เปอร์เซ็นต์ น้ำผึ้งส่วนใหญ่มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นอยู่ในระดับมาตรฐาน ยกเว้นน้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งยางพาราที่มีความชื้นค่อนข้างสูง น้ำผึ้งทุกชนิดมี pH ค่อนข้างเป็นกรด ระหว่าง 3.97 – 4.91 มีค่าปริมาณกรดทั้งหมดอยู่ระหว่าง 73.0 – 85.5 โดยน้ำผึ้งลำไยมีปริมาณกรดทั้งหมดค่อนข้างต่ำคือ 30 – 39 mEq น้ำผึ้งจากยางพารามีค่าการนำไฟฟ้าที่สูงกว่าน้ำผึ้งชนิดอื่นๆ คือ มีค่ามากกว่า 4 ms/cm ในขณะที่น้ำผึ้งชนิดอื่นมีค่าต่ำกว่า 1 น้ำผึ้งทุกชนิดมีค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และปริมาณเถ้าทั้งหมดในปริมาณน้อยมาก (ต่ำกว่า 1) พบปริมาณโคโลนิของยีสต์/ราในปริมาณต่ำ 0 – 2 โคโลนิ และมีค่าไดแอสเตสแอกติวิตี และค่าเอชเอ็มเอฟในระดับมาตรฐานทุกตัวอย่าง

ตารางที่ 1 ลักษณะทั่วไปของน้ำผึ้ง

ลำดับ	ชนิดน้ำผึ้ง	ความ หวาน	ความชื้น (G/100g)	Total Nitrogen (%)	pH	ปริมาณกรดทั้งหมด (mEq.ของกรด/ 1 kg.)	EC (ms/cm)	เถ้าทั้งหมด (g/100g)	ยีสต์/รา	Diastase Number	HMF (mg/kg)
1	สาบเสือ 1	79.4	17.67	0.03	4.50	29	0.213	0.12	1	2.88	Nd.
2	สาบเสือ 2	74.0	24.37	0.05	4.21	53.5	0.373	0.14	0	10.53	Nd.
3	สาบเสือ 3	69.8	29.59	0.06	4.49	73.5	0.61	0.22	2	6.35	Nd.
4	ทานตะวัน 1	76.4	20.86	0.03	3.98	83.5	0.332	0.13	0	2.8	3.44
5	ทานตะวัน 2	78.6	19.05	0.04	4.12	82	0.312	0.11	1	2.32	Nd.
6	ทานตะวัน 3	76.7	19.77	0.03	4.39	75.0	0.295	0.11	0	2.36	4.68
7	ลำไย 1	80.0	17.32	0.03	4.79	39	0.312	0.16	0	6.96	3.28
8	ลำไย 2	79.1	18.70	0.04	4.91	30	0.263	0.14	0	6.07	2.92
9	ลำไย 3	80.0	17.15	0.03	4.56	35	0.267	0.14	0	8.07	3.89
10	ยางพารา 1	78.4	20.78		3.97	85.5	4.38	0.10	1	4.15	Nd.
11	ยางพารา 2	71.2	23.83		4.20	73.0	4.73	0.20	4	8.76	Nd.

ผลการวิเคราะห์ปริมาณของวิตามินที่มีในน้ำผึ้งชนิดต่างๆ แสดงในตารางที่ 2

ผลการวิเคราะห์ วิตามิน B1 B2 ในอะซิน วิตามิน B6 และ วิตามิน C พบว่า พบวิตามิน C และในอะซิน ในทุกตัวอย่างของน้ำผึ้ง และไม่พบวิตามิน B2 ในทุกตัวอย่างของน้ำผึ้ง ในขณะที่มีการตรวจพบวิตามิน B1 ใน น้ำผึ้งสาบเสือ และพบวิตามิน B6 เฉพาะในน้ำผึ้งทานตะวันเท่านั้น

การตรวจสอบสารปฏิชีวนะเตตระไซคลินนั้น ไม่พบในน้ำผึ้งชนิดใดเลย รวมทั้งการสุ่มตรวจปริมาณสาร กำจัดแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์ก็ไม่มีการตรวจพบเช่นเดียวกัน

ตารางที่ 2 วิตามินต่างๆ และปริมาณสารปฏิชีวนะในน้ำผึ้ง

ลำดับ	ชนิดน้ำผึ้ง	วิตามิน (mg/100g)					สารปฏิชีวนะ (µg/kg)	
		Vitamin B1	Vitamin B2	Niacin	Vitamin B6	Vitamin C	Tetracycline	Pyrethroid Group
1	สาบเสือ 1	ND	ND	0.04	ND	<0.15	ND	-
2	สาบเสือ 2	<0.003	ND	0.03	ND	<0.15	ND	-
3	สาบเสือ 3	0.003	ND	0.03	ND	0.18	ND	-
4	ทานตะวัน 1	ND	ND	0.08	0.04	0.54	ND	ND
5	ทานตะวัน 2	0.005	ND	0.07	0.02	0.42	ND	ND
6	ทานตะวัน 3	ND	ND	0.06	0.04	0.87	ND	-
7	ลำไย 1	ND	ND	0.07	ND	0.2	ND	-
8	ลำไย 2	ND	ND	0.12	ND	0.22	ND	-
9	ลำไย 3	ND	ND	0.09	ND	0.15	ND	ND
10	ยางพารา 1	ND	ND	0.03	ND	1.3	ND	-
11	ยางพารา 2	ND	ND	0.03	ND	1.66	ND	-

ผลการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุต่างๆ ที่มีในน้ำผึ้งทั้ง 4 ชนิดแสดงในตารางที่ 3

ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าสามารถพบแร่ธาตุต่างๆ คือ โพแทสเซียม แคลเซียม โซเดียม แมกนีเซียม เหล็ก ทองแดง สังกะสี แมกกาไนส กำมะถัน และโบรอน แต่ไม่พบ ฟอสฟอรัส ในทุกตัวอย่างยกเว้นน้ำผึ้ง สาบเสือ โดยพบ โพแทสเซียม และกำมะถันในปริมาณมาก รองลงมาคือ แคลเซียม โซเดียม แมกนีเซียม และ ทองแดง โดยพบ สังกะสี และโบรอนในปริมาณต่ำ ส่วนเหล็กส่วนใหญ่ในน้ำผึ้งแต่ละชนิดมีปริมาณเหล็กใน ปริมาณค่อนข้างต่ำ ยกเว้นน้ำผึ้งสาบเสือที่พบนั้นมีเหล็กในปริมาณสูงกว่าน้ำผึ้งชนิดอื่นๆ

ตารางที่ 3 แร่ธาตุต่างๆ ในน้ำผึ้ง

[illegible]

ผลการวิเคราะห์ค่าสีของน้ำฝิ่ง ดังแสดงในตารางที่ 4

จากตารางการวิเคราะห์ค่าสีของน้ำฝิ่ง พบว่า น้ำฝิ่งมีค่าความสว่างระหว่าง 37.79 – 67.86 ค่าสี a^* ระหว่าง 2.65 – 20.69 ค่าสี b^* ระหว่าง 39.85 – 99.49 โดยมีค่าความแตกต่างของสี (DE^*) ระหว่าง 40.17 – 88.38 โดยมีลักษณะทางกายภาพตั้งแต่สีเหลือง (ใส) ถึง สีเหลืองอมน้ำตาล(ใส)

ตารางที่ 4 ค่าสีของน้ำฝิ่ง

ลำดับ	ชนิดน้ำฝิ่ง	ค่าความสว่าง (L^*)	ค่าสี (a^*)	ค่าสี (b^*)	ค่าความต่างสี (DE^*)	ลักษณะทางกายภาพ
1	สาบเลื่อ 1	67.86±1.63	4.77±0.06	44.60±0.84	43.33	น้ำตาลอมเหลือง (ใส)
2	สาบเลื่อ 2	57.11±0.61	7.99±0.11	43.94±0.34	45.30	น้ำตาลอมเหลือง (ใส)
3	สาบเลื่อ 3	37.79±0.56	20.69±0.27	55.59±0.38	66.81	เหลืองอมน้ำตาลแดง
4	ทานตะวัน 1	67.83±0.07	9.32±0.96	89.49±2.24	88.38	เหลืองใส
5	ทานตะวัน 2	48.67±1.38	10.19±0.05	62.71±2.31	65.87	เหลืองอมน้ำตาล (ใส)
6	ทานตะวัน 3	61.34±0.28	12.62±0.10	83.69±0.50	83.60	เหลืองใส
7	ลำไย 1	62.01±0.03	11.49±0.14	64.30±0.14	64.37	เหลืองใส
8	ลำไย 2	53.26±0.44	10.92±0.14	56.87±0.60	59.09	เหลืองอมน้ำตาล (ใส)
9	ลำไย 3	62.57±0.16	7.80±0.28	55.57±0.33	55.16	เหลืองอมน้ำตาล (ใส)
10	ยางพารา 1	58.90±1.19	2.65±0.35	39.85±0.60	40.17	น้ำตาลอมเหลือง (ใส)

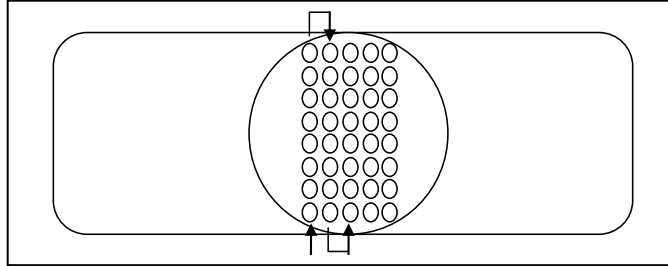
การศึกษาปริมาณเกสรในน้ำฝิ่ง เพื่อการจำแนกชนิดของน้ำฝิ่ง การทดลองดำเนินการดังนี้คือ

1. การเตรียมน้ำฝิ่ง

- ชั่งน้ำฝิ่ง 10 กรัม เติมน้ำกลั่นลงไป 40 มล. (น้ำกลั่นอุณหภูมิ 20-40 °C) คนให้เข้ากัน
- หยดสารละลาย basic fuchsin (0.1% เอทานอล) 2-3 หยดลงในบีกเกอร์
- นำน้ำฝิ่งไปกรองผ่านชุดกรองน้ำฝิ่งใช้กระดาษกรองโพล리카ร์บอนขนาด 8.0 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร
- เทน้ำกลั่นผ่านชุดกรอง 2- 3 ครั้ง
- นำแผ่นกรองออกจากชุดกรองและนำไปย้อมสี โดยนำไปวางใน เพตริดิสก์ ที่มีกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 9 เซนติเมตร เติมน้ำกลั่นละลายฟานิน O ที่ 1 นาทีเพื่อย้อมเกสรให้มีสีแดง
- เตรียมสไลด์เกสรฝิ่ง โดยหยดคิมเมอร์ชั้นออยด์ลงบน แผ่นสไลด์ วางกระดาษกรองที่มีย้อมสีแล้วลงบนสไลด์ และหยดคิมเมอร์ชั้นออยด์ลงบนกระดาษกรอง ปิดด้วย cover slip

2. การนับจำนวนเกสรในน้ำผึ้ง

- นับจำนวนเกสรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยนับเกสรจำนวน 100 field of view เพื่อจำแนกเกสรหลัก เกสรรอง และเกสรอื่นๆ ดังภาพประกอบ



ภาพที่ 1 จำนวนเกสรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

- การคำนวณหาปริมาณเกสร คิดเป็นเปอร์เซ็นต์

$$\text{เปอร์เซ็นต์เกสร} = \frac{\text{จำนวนเกสรหลัก}}{\text{จำนวนเกสรทั้งหมด}} \times 100$$

- การคำนวณหาเกสรต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม

$$\text{จำนวนเกสรต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม} = \frac{\text{s.a.}}{\text{f.a.}} \times \frac{\text{m.p.}}{\text{s.w.}} \times 1$$

s.a. = surface area (mm²)

f.a. = field area (mm²)

m.p. = mean of pollen/field

s.w. = sample weight (g)

การจำแนกชนิดของน้ำผึ้ง ตามเกณฑ์ของ Louveaux et al. (1970)

predominant pollen เกสรที่พบมากกว่า 45 เปอร์เซ็นต์

secondary pollen เกสรที่พบ 16-45 เปอร์เซ็นต์

important minor เกสรที่พบ 3-15 เปอร์เซ็นต์

minor pollen เกสรที่พบน้อยกว่า 3 เปอร์เซ็นต์

3. วิธีการทำสไลด์อ้างอิง (reference slide)

- นำละอองเกสรดอกไม้ที่ต้องการสไลด์อ้างอิงมาวางบนแผ่นสไลด์ โดยให้ละอองเกสรกระจายตัวบนสไลด์
- หยดสารละลาย glycerine jelly ลงบนสไลด์ ปิดด้วย cover slip ลงไฟ และทิ้งไว้ให้แห้ง

ผลการศึกษาปริมาณเกสรในน้ำผึ้ง แสดงในตารางที่ 5 – 8

ในการทดลองนี้ ได้ทำการศึกษปริมาณเกสรในน้ำผึ้งจำนวน 4 กลุ่ม ได้แก่ น้ำผึ้งดอกลำไย น้ำผึ้งดอกสาบเสือ น้ำผึ้งดอกทานตะวันและน้ำผึ้งดอกยางพารา โดยการนับจำนวนเกสรในน้ำผึ้งภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า โดยวิธีการศึกษาใช้วิธีและเกณฑ์การจำแนกชนิดน้ำผึ้งตามจำนวนเกสรของ Louveaux *et al.*, 1970 ซึ่งกล่าวว่า เกสรหลัก (predominant) คือเกสรที่พบในน้ำผึ้งมากกว่า 45 เปอร์เซ็นต์ ของเกสรทั้งหมด เกสรรอง (secondary pollen) คือเกสรที่พบในน้ำผึ้งระหว่าง 16 – 45 เปอร์เซ็นต์ของเกสรทั้งหมด เกสรปะปนสำคัญ (important minor pollen) คือเกสรที่พบในน้ำผึ้งระหว่าง 3 – 15 เปอร์เซ็นต์ ของเกสรทั้งหมด ส่วนเกสรปะปน (minor pollen) คือเกสรที่พบในน้ำผึ้งน้อยกว่า 3 เปอร์เซ็นต์ของเกสรทั้งหมด จากผลการทดลอง พบว่า ปริมาณเกสรหลักในน้ำผึ้งจากตัวอย่างน้ำผึ้งแต่ละชนิด มีปริมาณเกสรหลักมากกว่า 45 เปอร์เซ็นต์ น้ำผึ้งที่มีเกสรหลักในปริมาณสูงที่สุดคือ น้ำผึ้งตัวอย่างกลุ่มที่ 3 (น้ำผึ้งดอกทานตะวัน) จากตัวอย่างน้ำผึ้ง 3 ตัวอย่างพบปริมาณเกสรในน้ำผึ้งมากถึง 74.26, 73.54 และ 74.41 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 7) รองลงมาได้แก่น้ำผึ้งตัวอย่าง กลุ่มที่ 1 (น้ำผึ้งดอกลำไย), 2 (น้ำผึ้งดอกสาบเสือ) และ 4 (น้ำผึ้งยางพารา) ตามลำดับ (ตารางที่ 5, 6 และ 8)

ปริมาณเกสรรองที่พบในกลุ่มตัวอย่างน้ำผึ้ง กลุ่มที่ 1 (น้ำผึ้งดอกลำไย) คือ หญ้าก้านข้าว กลุ่มที่ 2 (น้ำผึ้งดอกสาบเสือ) คือ ไมยราบ กลุ่มที่ 3 (น้ำผึ้งดอกสาบเสือ) พบปริมาณเกสรรองไม่ถึง 16 เปอร์เซ็นต์ตามเกณฑ์ของ Louveaux *et al.*, 1970 กลุ่มที่ 4 (น้ำผึ้งดอกยางพารา) คือหญ้าก้านข้าว

จากผลการทดลองดังกล่าว พบว่าน้ำผึ้งแต่ละชนิดมีเกสรในน้ำผึ้งในปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณเกสรของดอกแต่ละชนิด แต่คณะผู้วิจัยอาจต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับพืชแวดล้อม และวัชพืชที่อยู่บริเวณพื้นที่เก็บน้ำผึ้ง เนื่องจากพืชดังกล่าวมีผลต่อปริมาณเกสรในน้ำผึ้งแต่ละชนิด และจะมีส่วนช่วยในการระบุอัตราส่วนของเกสรจากพืชอื่น ๆ ในน้ำผึ้งแต่ละชนิดได้ละเอียดเพิ่มมากขึ้น

ตารางที่ 5 น้ำผึ้งตัวอย่างกลุ่มที่ 1 น้ำผึ้งดอกลำไย จำนวน 3 ตัวอย่าง

ลำดับที่	ชื่อตัวอย่าง	ปริมาณเกสรทั้งหมด/ น้ำผึ้ง 1 กรัม	ปริมาณเกสรลำไย / น้ำผึ้ง 1 กรัม $\pm$ SD	ปริมาณเกสรรอง (หญ้าก้านข้าว) / น้ำผึ้ง 1 กรัม $\pm$ SD	ปริมาณเกสรอื่นๆ / น้ำผึ้ง 1 กรัม $\pm$ SD	% เกสรลำไย	% เกสรรอง	% เกสรอื่นๆ
1	ลำไย 1	6,716.63	4,678.64 $\pm$ 122.36	904.18 $\pm$ 150.93	1,133.81 $\pm$ 108.02	69.66	13.46	16.88
2	ลำไย 2	6,610.87	3,898.74 $\pm$ 101.60	1,003.66 $\pm$ 83.12	1,708.47 $\pm$ 112.86	58.97	15.18	25.84
3	ลำไย 3	5,715.94	3,147.85 $\pm$ 332.69	933.79 $\pm$ 135.08	1,634.31 $\pm$ 195.15	55.07	16.34	28.59

ตารางที่ 6 น้ำผึ้งตัวอย่างกลุ่มที่ 2 น้ำผึ้งดอกสาบเสือ จำนวน 3 ตัวอย่าง

ลำดับที่	ชื่อตัวอย่าง	ปริมาณเกสรทั้งหมด/ น้ำผึ้ง 1 กรัม	ปริมาณเกสรสาบเสือ/ น้ำผึ้ง 1 กรัม $\pm$ SD	ปริมาณเกสรรอง (ไมยราบ) / น้ำผึ้ง 1 กรัม $\pm$ SD	ปริมาณเกสรอื่นๆ / น้ำผึ้ง 1 กรัม $\pm$ SD	% เกสร ดอกสาบเสือ	% เกสรรอง	% เกสรอื่นๆ
1	สาบเสือ 1	4,803.62	2,520.51 $\pm$ 294.99	1,102.17 $\pm$ 114.92	1,180.93 $\pm$ 180.02	52.47	22.94	24.58
2	สาบเสือ 2	4,770.73	2,289.46 $\pm$ 111.95	1,215.54 $\pm$ 172.39	1,265.73 $\pm$ 240.45	47.99	25.48	26.53
3	สาบเสือ 3	5,629.15	2,891.20 $\pm$ 77.98	1,405.88 $\pm$ 138.12	1,332 $\pm$ 212.28	51.36	24.97	23.66

ตารางที่ 7 น้ำผึ้งตัวอย่างกลุ่มที่ 3 น้ำผึ้งดอกทานตะวัน จำนวน 3 ตัวอย่าง

ลำดับที่	ชื่อตัวอย่าง	ปริมาณเกสรทั้งหมด/ น้ำผึ้ง 1 กรัม	ปริมาณเกสรทานตะวัน / น้ำผึ้ง 1 กรัม $\pm$ SD	ปริมาณเกสรรอง (ไมยราบ) / น้ำผึ้ง 1 กรัม $\pm$ SD	ปริมาณเกสรอื่นๆ / น้ำผึ้ง 1 กรัม $\pm$ SD	% เกสรดอก ทานตะวัน	% เกสร รอง	% เกสร อื่นๆ
1	ทานตะวัน 1	7,616.35	5,655.71 $\pm$ 518.83	1,043.26 $\pm$ 144.04	917.38 $\pm$ 140.54	74.26	13.70	12.04
2	ทานตะวัน 2	7,658.26	5,631.67 $\pm$ 324.03	1,182.92 $\pm$ 51.42	843.68 $\pm$ 160.28	73.54	15.45	11.02
3	ทานตะวัน 3	7,294.71	5,428.28 $\pm$ 62.68	944.41 $\pm$ 90.92	872.02 $\pm$ 95.73	74.41	13.63	11.95

ตารางที่ 8 น้ำผึ้งตัวอย่างกลุ่มที่ 4 น้ำผึ้งดอกยางพารา จำนวน 2 ตัวอย่าง

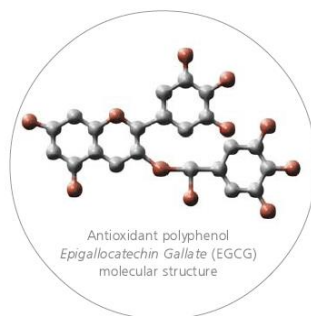
ลำดับที่	ชื่อตัวอย่าง	ปริมาณเกสรทั้งหมด/ น้ำผึ้ง 1 กรัม	ปริมาณเกสรยางพารา / น้ำผึ้ง 1 กรัม $\pm$ SD	ปริมาณเกสรรอง (หญ้าก้านจาว) / น้ำผึ้ง 1 กรัม $\pm$ SD	ปริมาณเกสรอื่นๆ / น้ำผึ้ง 1 กรัม $\pm$ SD	% เกสรดอก ยางพารา	% เกสรรอง	% เกสรอื่นๆ
1	ยางพารา 1	5,842.04	2,870.56 $\pm$ 546.94	1,075.55 $\pm$ 236.32	1,895.93 $\pm$ 394.10	49.14	18.41	32.45
2	ยางพารา 2	5,911.05	2,709.27 $\pm$ 476.13	1,176.69 $\pm$ 137.01	2,025.09 $\pm$ 267.22	45.83	19.91	34.26

2. การศึกษาการออกฤทธิ์ทางเคมีและทางชีวภาพของน้ำผึ้ง

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งในครั้งนี้ใช้วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีในน้ำผึ้ง

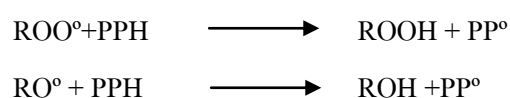
สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารในกลุ่ม Secondary metabolite ที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโต และขยายพันธุ์พืชแต่ละชนิด โดยทั่วไปมีหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) มากกว่าหรือเท่ากับ 1 หมู่ เกาะกับวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) สารประกอบฟีนอลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิลมากกว่า 1 หมู่ นิยมเรียกว่า สารประกอบโพลีฟีนอล (Polyphenol) โดยส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่ละลายน้ำ มักพบรวมอยู่กับน้ำตาลในรูปไกลโคไซด์ โดยอาจเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharide) น้ำตาลโมเลกุลคู่ (Disaccharide) หรือโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) ก็ได้ แต่น้ำตาลที่พบมากที่สุดคือ กลูโคส (Glucose) ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นที่พบได้แก่ กาแลกโตส (Galactose) แรมโนส (Rhamnosr) ไซโลส (Xylose) อะราบินโนส (Arabinose) และอนุพันธ์ของน้ำตาลเหล่านี้ เช่น กรดกลูโคโนนิก (Glucorronic acid) กรดกาแลกทูโรนิก (Galacturonic acid) และอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก (Carboxylic acid) กรดอินทรีย์ (Organic acid) อะมีน (Amine) และไขมัน การสร้างสารประกอบฟีนอลิกของพืชจะมีทั้งปัจจัยทางด้านพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการเพาะปลูก ระดับความสุก กระบวนการแปรรูป หรือแม้แต่กระบวนการเก็บรักษาก็ล้วนแต่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งสิ้น



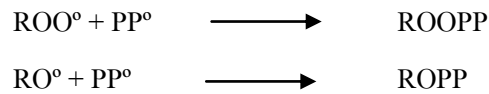
ภาพที่ 2 โครงสร้างสารประกอบฟีนอลิก (ที่มา : <http://pirun.ku.ac.th>)

สมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก เป็นสมบัติที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบันด้วย การเป็นสารต้านออกซิเดชันและสารต้านการกลายพันธุ์ (Antimutagens) และการใช้สารประกอบฟีนอลิกในการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือดและโรคมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอลิกจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็วดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

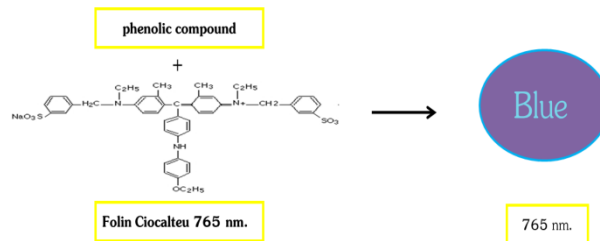


เมื่อสารประกอบฟีนอลิก ให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกค่อนข้างมีเสถียรภาพ ดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไป ยิ่งไปกว่านั้นอนุมูลอิสระของ

สารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีกด้วย จึงทำให้สามารถลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ 2 เท่า ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้



การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก นิยมใช้การวัดด้วยวิธีการวัดสีโดย สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งมีวิธีที่นิยมคือ วิธี Folin Ciocalteu โดยมีหลักการคือ ใช้สาร Folin Ciocalteu ที่ทำปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลิกในน้ำฟีนแล้วเกิดสารประกอบสีม่วง ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เกิดขึ้น โดยเทียบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก จากกราฟมาตรฐานโดยใช้สารมาตรฐานคือ gallic acid เนื่องจาก gallic acid เป็นสารประกอบฟีนอลิกซึ่งเป็นหน่วยที่เล็กที่สุดของ tannin ที่พบมากในพืช ดังนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในน้ำฟีนจึงแสดงค่าเทียบเท่าในหน่วยมิลลิกรัม (gallic acid) ต่อกรัม น้ำฟีน



ภาพที่ 3 โครงสร้างของสารประกอบ Folin Ciocalteu และกลไกการตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิก
วิธีการทดลอง

1. เตรียมสารละลายในการทดสอบการวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid monohydrate ความเข้มข้น 0.123 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยชั่ง Gallic acid monohydrate 6.15 มิลลิกรัม ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย เอทานอล 40 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

1.2 เตรียมสารละลาย Folin-ciocalteu's reagent solution อัตราส่วน 1:10 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำ Folin-ciocalteu's reagent solution 10 มิลลิลิตรใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร

1.3 เตรียมสารละลาย Sodium carbonate (Na_2CO_3) 7.5 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร ชั่ง Sodium carbonate (Na_2CO_3) 7.5 กรัม ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. การสร้างกราฟมาตรฐานของ Gallic acid monohydrate

2.1 นำสาร Gallic acid monohydrate มาเจือจางด้วยเอทานอล 40 เปอร์เซ็นต์ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.123, 0.062, 0.031 และ 0.015 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2 นำสารละลาย Gallic acid monohydrate แต่ละความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

2.3 เติมน้ำกลั่น Folin-ciocalteu's ที่เจือจาง 1:10 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

2.4 เติมน้ำละลาย Sodium carbonate 7.5 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักโดยปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ใส่ในเครื่องผสมสารละลาย Vortex mixer ในแต่ละความเข้มข้นทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

2.5 บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2.6 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร Blank คือ เอธานอล 40 เปอร์เซ็นต์ 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับ Folin-ciocalteu's 2.5 มิลลิลิตร ผสมกับ Sodium carbonate 2.5 มิลลิลิตร

2.7 นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน Gallic acid monohydrate โดยแสดงสมการเส้นตรงของความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Gallic acid monohydrate ในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3. การวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในน้ำผึ้งชนิดต่างๆ

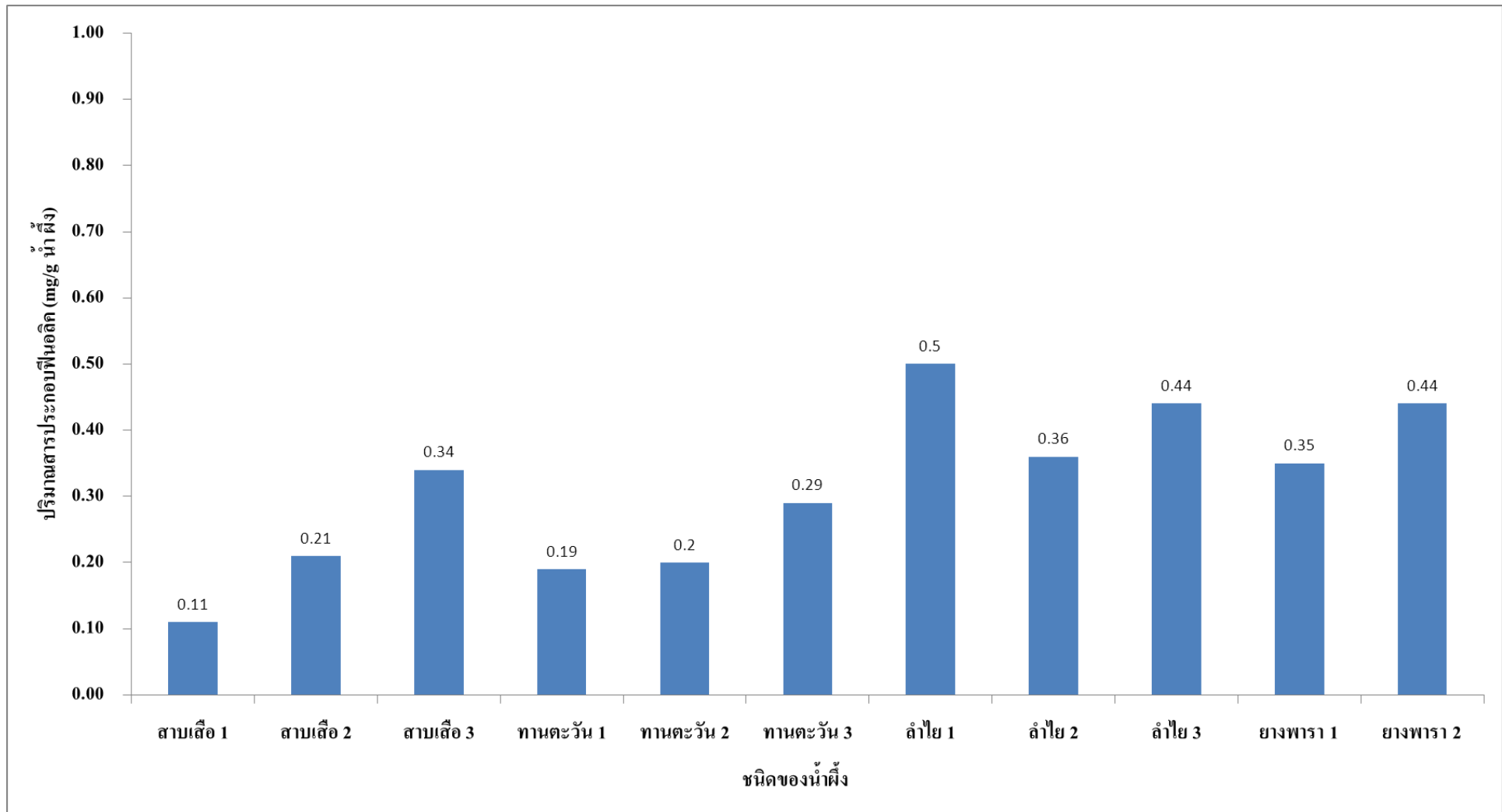
3.1 ชั่งน้ำผึ้งชนิดต่างๆ ปริมาณ 4 กรัม ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยเอธานอล 40 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ 50 ml เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายน้ำผึ้งเป็น 0.08 กรัมต่อมิลลิลิตร และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.04, 0.02 และ 0.01 กรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอธานอล 40 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย

3.2 นำสารละลายน้ำผึ้งแต่ละความเข้มข้น มา 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง และทำซ้ำกับข้อ 2.3 ถึง 2.6

3.3 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร ของน้ำผึ้งชนิดต่างๆ แทนค่าในสมการของกราฟมาตรฐาน Gallic acid monohydrate เพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัม น้ำผึ้ง (gallic acid) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ เพื่อหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ผลการทดลองปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แสดงในภาพที่ 4

ผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่ตรวจพบในน้ำผึ้งแต่ละชนิด ซึ่งน้ำผึ้งลำไยมีแนวโน้มมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าน้ำผึ้งชนิดอื่น รองลงมาคือ น้ำผึ้งยางพารา ส่วนน้ำผึ้งทานตะวันมีแนวโน้มมีสารประกอบฟีนอลิกต่ำที่สุด



ภาพที่ 4 ปริมาณสารประกอบฟอสฟอรัสที่ตรวจพบในน้ำผัก 4 ชนิด

3. การศึกษาการผลิตลูกอมน้ำผึ้งเพื่อสุขภาพ

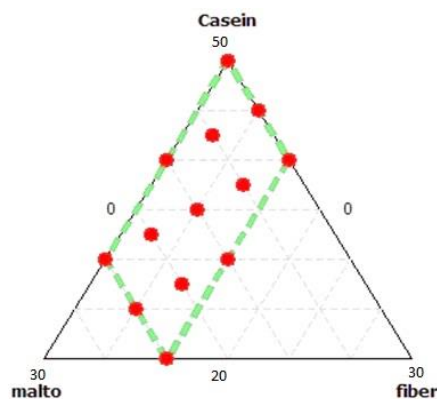
ในการทดลองเพื่อผลิตลูกอมน้ำผึ้งเพื่อสุขภาพนั้นแบ่งการทดลองเป็น 2 ขั้นตอน คือ

3.1 การทดลองเพื่อหาส่วนผสมในการทำลูกอมที่เหมาะสม

พัฒนาสูตรลูกอมน้ำผึ้งอัดเม็ดโดยใช้แผนการทดลองแบบส่วนผสม (Mixture Design) ชนิด Extreme Vertices โดยมีปัจจัยที่ต้องศึกษา 3 ปัจจัย คือ เคซีน มอลโตเด็คซ์ตริน และใยอาหาร โดยจากการศึกษาในเบื้องต้น กำหนดให้ระดับของเคซีน ที่ใช้ในการศึกษาอยู่ในช่วงร้อยละ 0 – 50 มอลโตเด็คซ์ตรินอยู่ในช่วงร้อยละ 0 – 20 และใยอาหารอยู่ในช่วงร้อยละ 0-10 โดยกำหนดให้น้ำผึ้งเป็นปัจจัยคงที่ ใช้ปริมาณร้อยละ 50 จะได้ทั้งหมด 13 สิ่งทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 9 และภาพที่ 5

ตารางที่ 9 ส่วนผสมเป็นร้อยละของสูตรลูกอมน้ำผึ้งอัดเม็ด

สิ่งทดลอง	น้ำผึ้ง	เคซีน	มอลโตเด็คซ์ตริน	ใยอาหาร
1	50	27.5	15	7.5
2	50	20	20	10
3	50	40	10	0
4	50	42.5	5	2.5
5	50	50	0	0
6	50	45	0	5
7	50	25	20	5
8 (center point)	50	35	10	5
9	50	32.5	15	2.5
10	50	40	0	10
11	50	30	20	0
12	50	30	10	10
13	50	37.5	5	7.5



ภาพที่ 5 พื้นที่ของแต่ละสิ่งทดลองในแบบการทดลองแบบส่วนผสมชนิด Extreme Vertices

วิธีการผลิต

วิธีการผลิตดัดแปลงมาจาก สุวรรณ (2543) โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

- 1 นำส่วนผสมที่เป็นของแข็ง (มอลโตเด็กซ์ทริน เคซีน และไขมันอาหาร) ในอัตราส่วนที่กำหนดไว้ตามแต่ละสิ่งทดลองมาร้อนผ่านตะแกรง จากนั้นทำการผสมให้เข้ากันในภาชนะ
- 2 เทน้ำผึ้งลงไปโดยระวังอย่าให้น้ำผึ้งสัมผัสกับผิวภาชนะ จากนั้นทำการนวดผสมให้เข้ากันจนได้เป็นก้อนโด
- 3 พักก้อนโดไว้นานไม่เกิน 5 นาที จากนั้นนำก้อนโดมารีดโดยใช้ไม้อัดให้เป็นแผ่นให้มีความหนาเท่ากับ 4 มิลลิเมตร ตลอดทั่วทั้งแผ่น
- 4 ทำการกดขึ้นรูปโดยใช้แม่พิมพ์ทรงกระบอกที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จากนั้นแล้ววางบนถาดที่รองด้วยกระดาษไขที่มีการโรยแป้งข้าวโพดไว้
- 5 นำไปอบด้วยเครื่องทำแห้งแบบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้น นำเข้าโถดูดความชื้นเป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง
- 6 ทำการเก็บไว้ในภาชนะที่ปิดสนิทโดยบรรจุพร้อมกับมีซองวัตถุกันชื้น

3.2 การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้ง

3.2.1 การวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ

ทำการวัดคุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางด้านกายภาพโดยทำการวัดค่า ร้อยละของผลผลิต (บวรเชษฐ์, 2549) ค่าความหนา โดยใช้ไมโครมิเตอร์ (Sahin and Sumnu, 2006) ค่าความกลมโดยใช้เวอร์เนียคาร์ริเปอร์ (Sahin and Sumnu, 2006) ค่าน้ำหนักต่อก้อน (นงสุดา, 2546) ค่าความหนาแน่น โดยใช้ถ้วยเรก้า (Sahin and Sumnu, 2006) ค่าสีด้วยระบบ L^* , a^* , b^* , c , h° ด้วยเครื่องวัดค่าสี และการละลายที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (อังคณา, 2543)

3.2.2 การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี

ทำการวัดคุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางด้านกายภาพโดยทำการวัดค่าความชื้น (AOAC, 2006) water activity ด้วยเครื่อง water activity meter ร้อยละการดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80 (จีพหทัย, 2549)

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ความแปรปรวนถ้าพบนัยสำคัญทางสถิติจะคำนวณค่า Duncan's new multiple range test (DMRT) เพื่อทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างสิ่งทดลองและทำการวิเคราะห์โดยวิธีการแสดงผลตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิว (Response Surface Methodology, RSM) โดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์เป็นแบบหุ่นเส้นตรง (linear model) เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะค่าคุณภาพทางกายภาพและทางเคมี (y) กับปริมาณเคซีน (x_1) ปริมาณมอลโตเด็กซ์ทริน (x_2) และปริมาณไขมัน (x_3) ดังนี้ $y = b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3$ ในการวิเคราะห์ความถดถอย (regression) เลือกแบบจำลองที่มีระดับความเชื่อมั่นมากกว่าร้อยละ 70 มาสร้างกราฟโครงร่าง (contour plot)

ผลการทดลองการศึกษาการผลิตลูกอมน้ำผึ้งเพื่อสุขภาพ

จากการศึกษาในเบื้องต้นพบว่า ปริมาณของเคซีนที่เหมาะสมในการผลิตลูกอมน้ำผึ้งอัดเม็ดควรอยู่ในช่วงร้อยละ 0 – 50 เนื่องจากเป็นส่วนผสมที่ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัวมากที่สุดแต่ไม่ได้ช่วยในเรื่องของรสชาติ ผลิตภัณฑ์ ส่วนปริมาณ มอลโตเด็คซ์ตรินควรอยู่ในช่วงร้อยละ 0 – 20 การใช้มอลโตเด็คซ์ตรินในปริมาณที่มากกว่านี้ มีผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวลดลงแต่มีส่วนช่วยทางด้านเนื้อสัมผัสของตัวผลิตภัณฑ์ และใยอาหารควรอยู่ในช่วงร้อยละ 0 – 10 การใช้ใยอาหารในปริมาณที่มากกว่านี้ มีผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวลดลงแต่มีส่วนช่วยทางด้านรสชาติ

การศึกษาลักษณะที่ผสมของส่วนผสมทั้ง 3 ชนิด ในการผลิตลูกอมน้ำผึ้งอัดเม็ดทั้ง 7 สิ่ง ทดลอง โดยการวัดคุณภาพทางกายภาพ ทำการการวัดค่า ร้อยละของผลผลิต ค่าความหนา ค่าความกลมค่าน้ำหนักต่อก้อนค่าความหนาแน่น ค่าสีด้วยระบบ L^* , a^* , b^* , c และ h และการละลาย ส่วนทางเคมี ด้วยการวัดค่า ร้อยละความชื้น ค่า water activity ร้อยละการดูดความชื้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ผน ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80 พบว่าค่าปริมาณร้อยละผลผลิตมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.5$) โดยสิ่งทดลองที่มีส่วนผสมเคซีนร้อยละ 37.5 มอลโตเด็คซ์ตรินร้อยละ 5 และใยอาหารร้อยละ 7.5 เป็นสิ่งทดลองที่มีค่าปริมาณร้อยละผลผลิตมากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 92.16 โดยภาพรวมในทุกสิ่งทดลองพบว่าค่าปริมาณร้อยละผลผลิตมีค่าสูงกว่าร้อยละ 60 เนื่องจากส่วนผสมที่ใช้ในการผลิตลูกอมทั้ง 4 อย่าง มีค่าปริมาณความชื้นอยู่ในระดับต่ำกว่าร้อยละ 10 เพราะส่วนผสมที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นของแห้ง ยกเว้นน้ำผึ้งเท่านั้นที่เป็นของเหลวอีกทั้งยังมีปริมาณความชื้นมากที่สุด ซึ่งโดยทั่วไปน้ำผึ้งมีปริมาณความชื้นประมาณร้อยละ 20 ดังนั้นปริมาณการสูญเสียผลิตมาจากระหว่างกระบวนการผลิตขึ้นรูปมากกว่าเกิดขึ้นจากระหว่างกระบวนการอบส่วนค่าความหนา พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.5$) โดยทุกสิ่งทดลองมีค่าความหนามากกว่า 4 มิลลิเมตร แต่ไม่เกิน 6 มิลลิเมตร เป็นผลมาจากวิธีการทำเนื่องจากใช้เทคนิควิธีการรีดให้เป็นแผ่นแล้วจึงใช้แม่พิมพ์กดขึ้นรูป ซึ่งวิธีการดังกล่าวนี้ สามารถควบคุมความหนาได้ยากกว่าวิธีการใช้ขึ้นรูปโดยใช้เครื่องตอกเม็ด (สุวรรณ, 2543)

ส่วนค่าความกลม พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.5$) ซึ่งทุกสิ่งทดลองมีค่าความกลมมากกว่า 1 โดยค่าความกลมที่ดีควรมีค่าเข้าใกล้ 1 มากที่สุด ซึ่งถ้าค่าความกลมมีค่าเท่ากับ 1 แสดงว่าตัวอย่างไม่มีการหดตัวหรือขยายตัวเกิดขึ้น แต่ถ้าค่าความกลมมีค่าน้อยกว่า 1 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างเกิดการหดตัว ส่วนค่าความกลมที่มีค่ามากกว่า 1 แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างเกิดการขยายตัว ดังนั้นทุกสิ่งทดลองเกิดการขยายตัวแต่มีการขยายตัวไม่มากเนื่องจาก ค่าความกลมทุกสิ่งทดลองอยู่ในช่วง 1.11 – 1.27 เท่านั้น นั่นหมายความว่า ส่วนผสมที่ใช้ทั้งหมดมีแนวโน้มให้ผลิตภัณฑ์ลูกอมที่ได้เกิดการขยายตัวมากกว่าการหดตัว ส่วนค่าน้ำหนักต่อเม็ดพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.5$) โดยทุกสิ่งทดลองมีค่าน้ำหนักต่อเม็ดอยู่ในช่วงประมาณ 0.26 – 0.47 กรัมต่อเม็ด ส่วนค่าความหนาแน่นพบว่าทุกสิ่งทดลองมีค่าความหนาแน่นที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.5$) นั่นคือทุกสิ่งทดลองมีค่าความหนาแน่นมากกว่า 0.9 กรัม/ลบ.ซม. โดยเฉพาะสิ่งทดลองที่มีส่วนผสมเคซีนร้อยละ 37.5 มอลโตเด็คซ์ตรินร้อยละ 5 และ

โยอาหารร้อยละ 7.5 มีค่าความหนาแน่นมากกว่า 1 กรัม/ลบ.ซม. เพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Sahin and Sumnu, 2006)

ส่วนค่าสีทุกค่าที่ทำการวัดพบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.5$) โดยทุกสิ่งทดลองมีค่าความสว่าง (L^*) อยู่ในช่วง 87.72 – 94.28 อยู่ในเกณฑ์ที่ถือว่ามีความสว่างค่อนข้างมาก ส่วนค่าสีแดง หรือสีเขียว (a^*) มีค่าอยู่ในช่วง - 0.53 ถึง 1.53 นั่นคือมีสีเขียว และสีแดงเพียงเล็กน้อย ส่วนค่าสีเหลือง หรือสีน้ำเงิน (b^*) มีค่าอยู่ในช่วง 6.19 – 19.44 แสดงให้เห็นว่าทุกสิ่งทดลองมีความเป็นสีเหลือง ส่วนค่าความเข้มของสี (Chroma, C) มีค่าอยู่ในช่วง 19.19 – 190.21 แสดงให้เห็นว่าในแต่ละสิ่งทดลองมีความเข้มของสีที่แตกต่างกัน และค่าองศาสี (h°) มีค่าอยู่ในช่วง 91.57 – 99.57 แสดงให้เห็นว่าทุกสิ่งทดลองสีเหลือง โดยภาพรวมจะเห็นว่าทุกตัวอย่างมีค่าความสว่างในระดับที่สูง และทุกสิ่งทดลองเป็นสีเหลือง เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตนั้นถ้าเป็นของแห้งมีสีขาวนวล ส่วนน้ำผึ้งมีสีเหลือง ดังนั้นทุกสิ่งทดลองใช้ปริมาณน้ำผึ้งถึงร้อยละ 50 จึงมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังคงมีสีเหลืองตามสีของวัตถุดิบ และส่วนผสมอีกร้อยละ 50 ที่เหลือเป็นของแห้งซึ่งของแห้งทั้ง 3 มีลักษณะสีขาวที่ไม่เหมือนกันจึงส่งผลต่อค่าความเข้มของสี ซึ่งจะมีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด

ส่วนค่าการละลายพบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.5$) โดยมีความสามารถในการละลายอยู่ในช่วง 6 ถึง 25 นาติ ซึ่งมีความแตกต่างกันในช่วงที่ค่อนข้างกว้าง แสดงให้เห็นว่า ความสามารถในการละลายของผลิตภัณฑ์นั้นขึ้นอยู่กับส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เป็นสำคัญ โดยไม่สามารถระบุลงไปให้แน่ชัดได้ว่าความสามารถในการละลายของผลิตภัณฑ์นั้น มีอิทธิพลมาจากวัตถุดิบใดเป็นสำคัญ เนื่องจากผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดจะมีลักษณะโครงสร้างภายในของแต่ละผลิตภัณฑ์ที่มีความแตกต่างกันออกไปส่งผลทำให้ความสามารถในการละลายของแต่ละผลิตภัณฑ์มีความแตกต่างกันตามไปด้วย

ส่วนค่าปริมาณความชื้น พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.5$) โดยมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 4.99 – 10.86 ซึ่งยังถือว่าทุกสิ่งทดลองมีปริมาณความชื้นในเกณฑ์ปกติ เนื่องจากโดยทั่วไปปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้ส่วนใหญ่จะไม่เกินร้อยละ 5 ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ส่วนผสมที่มีปริมาณความชื้นมากที่สุดคือ น้ำผึ้ง แต่ทุกสิ่งทดลองจะใส่ปริมาณน้ำผึ้งที่เท่ากัน ดังนั้นปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ยังมีอิทธิพลมาจากส่วนผสมที่เป็นของแห้งอีกด้วย ซึ่งความสามารถในการกักเก็บความชื้นไว้ในผลิตภัณฑ์ของแต่ละสิ่งทดลองมีความแตกต่างกัน อาจมีผลมาจากลักษณะการจับรวมตัวกันของส่วนผสมทำให้เกิดลักษณะโครงสร้างร่างแหขึ้น โดยที่แต่ละสิ่งทดลองมีปริมาณส่วนผสมที่เป็นของแห้งในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน ทำให้ความสามารถในการกักเก็บน้ำไว้ในโครงสร้างของผลิตภัณฑ์จึงมีความแตกต่างกันออกไปอีกด้วย (สุวรรณ, 2543)

ส่วนค่าปริมาณน้ำอิสระ (water activity) พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.5$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.4 – 0.47 ซึ่งค่า water activity ของผลิตภัณฑ์นี้มีอิทธิพลมาจากน้ำผึ้งเป็นสำคัญเนื่องจากเป็นวัตถุดิบที่มีค่า water activity สูงมากที่สุด มีผลทำให้ค่า water activity ของผลิตภัณฑ์ที่ได้มีค่าสูงกว่า 0.4 ส่วนสาเหตุที่ทำให้แต่ละสิ่งทดลองมีค่า water activity ที่แตกต่างกัน เป็นผลมาจากส่วนผสมวัตถุดิบที่เป็นของ

แห้งในแต่ละสิ่งทดลองมีอัตราส่วนที่แตกต่างกัน ซึ่งส่วนผสมที่เป็นของแห้งแต่ละชนิดมีค่า water activity ที่ไม่เท่ากัน แต่มีค่าที่ต่ำกว่า น้ำผึ้ง ซึ่งเมื่อทำการขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์ ส่งผลให้ความสามารถในการจับกับน้ำไว้ในตัวผลิตภัณฑ์มีความแตกต่างกันออกไป โดยที่ไม่มีความสอดคล้องกับค่าปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ (สุวรรณ, 2543)

ส่วนค่าปริมาณการดูดความชื้น พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 1.14 – 2.38 เห็นได้ชัดว่าทุกสิ่งทดลองมีความสามารถในการดูดความชื้นจากสภาพแวดล้อมได้ในระดับที่ต่ำ นั่นคือ ผลิตภัณฑ์ในการศึกษาครั้งนี้มีสภาพความคงตัวพอสมควร แต่ยังไม่สามารถบอกได้อย่างชัดเจนว่ามีความคงตัวมากน้อยเพียงใด เนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ตรวจสอบลักษณะการเปลี่ยนแปลงของค่า water activity ของผลิตภัณฑ์ อีกทั้งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นต่ำ ซึ่งโดยทั่วไปเมื่อมีการดูดความชื้นจากสภาพแวดล้อมเพียงเล็กน้อยก็มิผล ทำให้สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีได้มาพอที่ส่งผลให้ความคงตัวของผลิตภัณฑ์ลดลง ซึ่งมีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ตามไปด้วย (สุวรรณ, 2543)

ตารางที่ 10 สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้งอัดเม็ด

สูตร	ผลผลิต (ร้อยละ)	ความหนา (มม.)	ความ กลม	น้ำหนักต่อ ก้อน ^{ns} (กรัม)	ความหนาแน่น ^{ns} (g/cm ³)	L*	a*	b*	C	h°	การละลาย (นาที)	ความชื้น (ร้อยละ)	Water activity ^{ns} (a _w)	ดูความชื้น (ร้อยละ)
1	60.66 ^g	5.30 ^{cde}	1.27 ^a	0.35	0.93	92.14 ^d	-0.28 ^{hi}	12.36 ^f	76.44 ^g	98.57 ^c	9.47 ^f	8.41 ^f	0.43	1.64 ^{de}
2	61.83 ^g	4.73 ^f	1.18 ^{ab}	0.28	0.93	92.36 ^d	0.14 ^{efg}	8.47 ^j	35.90 ^k	98.96 ^b	4.28 ^k	8.19 ^{ef}	0.41	2.02 ^{bc}
3	83.33 ^b	5.72 ^{ab}	1.21 ^{ab}	0.47	0.94	87.72 ⁱ	1.53 ^a	19.44 ^a	190.21 ^a	95.01 ^h	6.86 ^j	8.53 ^{de}	0.45	1.22 ^f
4	63.33 ^{fg}	5.39 ^{bcd}	1.18 ^{ab}	0.35	0.93	88.94 ^h	0.31 ^{def}	12.78 ^e	81.68 ^f	98.48 ^c	10.72 ^d	7.18 ^g	0.43	2.18 ^{ab}
5	69.49 ^{cd}	5.78 ^a	1.15 ^{ab}	0.42	0.95	91.75 ^e	0.78 ^{bc}	13.44 ^d	90.68 ^d	96.32 ^f	8.49 ^g	10.86 ^a	0.46	1.54 ^e
6	70.49 ^c	5.15 ^{de}	1.13 ^b	0.33	0.92	89.42 ^g	1.06 ^b	14.67 ^c	108.11 ^c	95.43 ^g	9.46 ^f	4.99 ^h	0.42	1.95 ^{bcd}
7	65.49 ^{ef}	5.32 ^{cde}	1.11 ^b	0.30	0.93	91.69 ^e	-0.08 ^{gh}	12.36 ^f	76.40 ^g	99.57 ^a	9.96 ^e	8.51 ^{de}	0.42	2.01 ^{bc}
8	67.17 ^{de}	5.01 ^{ef}	1.21 ^{ab}	0.35	0.92	90.14 ^f	0.50 ^{cd}	12.83 ^e	82.47 ^e	97.52 ^d	7.57 ⁱ	8.79 ^d	0.43	2.07 ^{abc}
9	69.33 ^{cd}	5.40 ^{bcd}	1.22 ^{ab}	0.35	0.92	92.83 ^c	-0.53 ⁱ	11.50 ^g	66.26 ^h	97.08 ^c	11.65 ^c	8.78 ^d	0.44	1.82 ^{cde}
10	60.66 ^g	5.34 ^{cde}	1.15 ^{ab}	0.30	0.94	92.36 ^d	0.42 ^{de}	9.31 ⁱ	43.38 ^j	97.15 ^e	7.93 ^h	8.71 ^{de}	0.40	1.65 ^{de}
11	65.66 ^{ef}	5.14 ^{de}	1.15 ^{ab}	0.29	0.95	93.47 ^b	0.00 ^{fgh}	9.92 ^h	49.17 ⁱ	91.57 ^j	17.35 ^b	9.14 ^c	0.42	1.91 ^{bcd}
12	61.49 ^g	5.21 ^{de}	1.21 ^{ab}	0.26	0.94	94.28 ^a	0.06 ^{fg}	6.19 ^k	19.19 ^l	99.43 ^a	24.76 ^a	9.71 ^b	0.41	2.38 ^a
13	92.16 ^a	5.63 ^{abc}	1.13 ^b	0.47	1.17	89.03 ^h	1.50 ^a	16.17 ^b	131.81 ^b	94.11 ⁱ	8.60 ^g	5.24 ^h	0.47	1.14 ^f

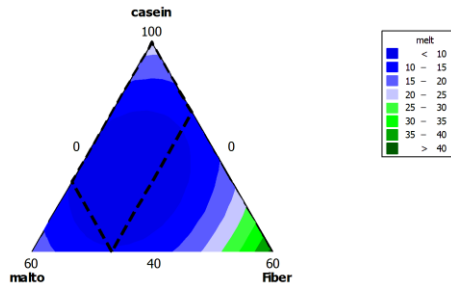
เมื่อข้อมูลที่ได้จากการตรวจสอบทางกายภาพ และทางเคมี ทั้ง 13 สิ่งทดลอง ที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.5$) มาวิเคราะห์โดยวิธีการแสดงผลตอบสนองแบบ
 โครงร่างพื้นผิวใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์เป็นแบบหุ่นเส้นตรงเพื่ออธิบายความสัมพันธ์ค่าคุณภาพกับปัจจัยที่ทำการศึกษา คือปริมาณเคซีน (X_1) ปริมาณมอลโตเดกซ์
 ตริน (X_2) และปริมาณไขมัน (X_3) แสดงผลดังตารางที่ 10 พบว่า ค่าที่สามารถใช้ในการทำนายคุณภาพของผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้งอัดเม็ด และสามารถนำมาสร้าง contour

plot เพื่อหาสูตรที่ดีของผลิตภัณฑ์ในการทดลองนี้มีค่า R^2 อยู่ระหว่าง 0.7686 - 0.7957 นั่นคือ ค่าการละลาย และดูความชื้น (ส่วนค่าร้อยละผลผลิตความหนา ความกลม ค่าสี และปริมาณความชื้นมีค่า R^2 ก่อนข้างน้อยจึงไม่นำมาทำนาย)

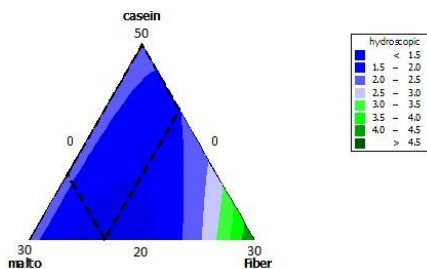
ตารางที่ 11 แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ได้จากการทำนายสมบัติทางกายภาพ และทางเคมีของผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้งอัดเม็ด

ค่าที่ทำการวิเคราะห์	แบบจำลองที่ได้จากการทำนาย	R^2
ผลผลิต (ร้อยละ)	$y = 0.644192x_1 + 1.42162x_2 + 1.25812x_3 - 0.012737x_1x_2 - 0.005947x_1x_3 + 0.006848x_2x_3$	0.6449
ความหนา (มม.)	$y = 0.052569x_1 + 0.082817x_2 + 0.070914x_3 - 0.000439x_1x_2 - 0.000268x_1x_3 - 0.000171x_2x_3$	0.4163
ความกลม	$y = 0.011529x_1 + 0.005924x_2 + 0.015735x_3 + 0.000091x_1x_2 - 0.000042x_1x_3 + 0.000062x_2x_3$	0.1751
L^*	$y = 0.940404x_1 + 0.775732x_2 + 0.019665x_3 + 0.000594x_1x_2 + 0.00932x_1x_3 + 0.014881x_2x_3$	0.5956
a^*	$y = 0.001405x_1 + 0.089759x_2 - 0.023628x_3 - 0.001305x_1x_2 + 0.000475x_1x_3 - 0.00002x_2x_3$	0.46
b^*	$y = 0.0692087x_1 + 0.252878x_2 + 1.00867x_3 - 0.000216x_1x_2 - 0.007669x_1x_3 - 0.012566x_2x_3$	0.6119
C	$y = 0.227905x_1 + 2.27333x_2 + 10.5929x_3 - 0.005735x_1x_2 - 0.087891x_1x_3 - 0.114318x_2x_3$	0.5242
h^0	$y = 0.78947x_1 - 2.17297x_2 + 21.4078x_3 + 0.060474x_1x_2 - 0.259347x_1x_3 - 0.200021x_2x_3$	0.4394
การละลาย (นาทึ)	$y = 0.228763x_1 + 0.68893x_2 + 1.35875x_3 - 0.013172x_1x_2 - 0.020606x_1x_3 - 0.019575x_2x_3$	0.7957
ความชื้น (ร้อยละ)	$y = 0.088976x_1 - 0.001719x_2 - 1.59172x_3 + 0.000905x_1x_2 + 0.018991x_1x_3 + 0.023068x_2x_3$	0.5845
ดูความชื้น (ร้อยละ)	$y = 0.021968x_1 + 0.025135x_2 + 0.110637x_3 - 0.000058x_1x_2 - 0.001243x_1x_3 - 0.002319x_2x_3$	0.7686

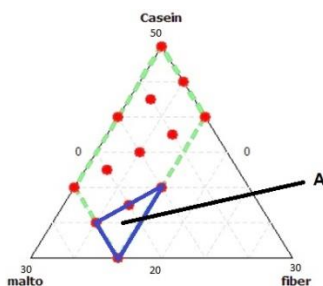
เมื่อนำข้อค่าการละลาย และค่าการดูดความชื้น ทั้ง 13 สิ่งทดลอง ซึ่งมีค่า R^2 เท่ากับ 0.7957 และ 0.7686 ตามลำดับ มาสร้าง contour plot เพื่อหาสูตรที่ดีของผลิตภัณฑ์ในการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 6 (a) และ (b) จากนั้นนำกราฟจากรูป 6 (a) และ (b) มาซ้อนทับกันเพื่อหาพื้นที่ในการคัดเลือกสูตรที่เหมาะสม ดังแสดงในรูป 6 (c) โดยเลือกจากพื้นที่ที่มีค่าการละลายน้อยที่สุด และมีค่าร้อยละการดูดความชื้นน้อยที่สุด เป็นเกณฑ์กำหนดในการคัดเลือกพื้นที่ที่เหมาะสม



(a) การละลาย



(b) ร้อยละการดูดความชื้น



(c) บริเวณพื้นที่ที่ซ้อนทับกัน

ภาพที่ 6 Contour plot ของค่าการละลาย ร้อยละการดูดความชื้น และบริเวณพื้นที่ที่ซ้อนทับกัน ของผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้งอัดเม็ด

จากภาพที่ 6 (c) พบว่าพื้นที่ที่ทับกัน (อักษร A) เป็นพื้นที่ที่มีความเหมาะสมของส่วนผสมผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้งอัดเม็ด โดยมีปริมาณน้ำผึ้งร้อยละ 50 ปริมาณเคซีนอยู่ในช่วงร้อยละ 20 – 30 ปริมาณมอลโตเด็กซ์ทรินอยู่ในช่วงร้อยละ 10 – 20 และปริมาณใยอาหารอยู่ในช่วงร้อยละ 5 – 10 ซึ่งสูตรที่เหมาะสมจากการศึกษาในครั้งนี้จะนำไปเป็นแนวทางพัฒนาผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้งอัดเม็ดในขั้นตอนต่อไป

สรุป

ด้วยการทดลองนี้เป็นการทดลองที่ใช้เวลาดำเนินการต่อเนื่อง 2 ปี ผลการทดลองที่สามารถดำเนินการได้ในปีที่ 1 สรุปผลได้ดังนี้

1. ดำเนินการเก็บตัวอย่างน้ำผึ้งได้ 4 ชนิดคือ น้ำผึ้งลำไย 3 ตัวอย่างจากจังหวัดลำพูนและเชียงใหม่ น้ำผึ้งทานตะวัน 3 ตัวอย่างจากจังหวัดสระบุรีและลพบุรี น้ำผึ้งสาบเสือ 3 ตัวอย่างจากจังหวัดแพร่ น้ำผึ้งยางพารา 2 ตัวอย่างจากจังหวัดชุมพรและสุราษฎร์ธานี

2. การศึกษาลักษณะทั่วไปของน้ำผึ้งตามลักษณะมาตรฐานที่กำหนดขององค์การอาหารและยา พบว่า น้ำผึ้งทุกชนิดและทุกตัวอย่างมีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด ยกเว้นน้ำผึ้งสาบเสือที่มีความชื้นสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐาน

3. ในการตรวจสอบปริมาณแร่ธาตุต่างๆ ในน้ำผึ้งแต่ละชนิด พบว่า ในน้ำผึ้งมี โพแทสเซียม และ กำมะถัน ในปริมาณสูง รองลงมาคือ โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม และ ทองแดง พบ สังกะสี โบรอน และ เหล็กในปริมาณน้อย โดยพบ เหล็กในน้ำผึ้งสาบเสือในปริมาณสูงกว่าน้ำผึ้งชนิดอื่นๆ

4. การตรวจสอบวิตามิน B1 B2 Niacin B6 และวิตามิน C ในน้ำผึ้ง พบ Niacin และวิตามิน C ในน้ำผึ้งทุกตัวอย่างแต่ไม่พบวิตามิน B2 ในทุกตัวอย่าง ส่วนวิตามิน B1 และ B6 มีการตรวจพบในน้ำผึ้งบางชนิดเท่านั้น

5. การวิเคราะห์ชนิดของเอนไซม์เพื่อการวิเคราะห์ชนิดของน้ำผึ้ง พบว่า น้ำผึ้งจากพืชทั้ง 4 ชนิดมีเอนไซม์ของพืชชนิดนั้นเป็นเอนไซม์หลักคือ มีเอนไซม์มากกว่า 45 เปอร์เซ็นต์ของเอนไซม์ทั้งหมด แม้น้ำผึ้งยางพาราที่ผึ้งจะเก็บน้ำหวานจากใบ ก็พบเอนไซม์ยางพาราที่มากกว่า 45 เปอร์เซ็นต์

6. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในน้ำผึ้งแต่ละชนิด พบว่า น้ำผึ้งลำไยมีแนวโน้มมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าน้ำผึ้งชนิดอื่นๆ โดยน้ำผึ้งทานตะวันมีแนวโน้มมีสารประกอบฟีนอลิกต่ำสุด

7. การผลิตลูกอมน้ำผึ้งเพื่อสุขภาพ

จากการพัฒนาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตลูกอมน้ำผึ้งเพื่อสุขภาพนั้น พบว่า ปริมาณเคซีนที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วงร้อยละ 0 – 50 มอลโตเด็คซ์ตรินในช่วงร้อยละ 0 – 20 และไขมันในช่วงร้อยละ 0 – 10 ซึ่งเป็นสูตรในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ลูกอมน้ำผึ้งต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- รัตติกร ชเนศราภา. 2544. การพัฒนาการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์
มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- สุวรรณ สุภิมารส. 2543. เทคโนโลยีการผลิตลูกกวาดและช็อกโกแลต. พิมพ์ที่สำนักพิมพ์แห่ง
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ 393 หน้า.
- ไพโรจน์ หลวงพิทักษ์. 2553. ผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ. เข้าถึงได้จาก
<http://www.fao.org/docrep/fao/012/i0842016.pdf>
- Allen, K.L., Molan, P.C. and Reid, G.M., 1991. A survey of the antibacterial activity of some New
Zealand honeys. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 43, pp. 817–822. View Record in Scopus
| Cited By in Scopus (138)
- A.M. Gómez-Caravaca, M. Gómez-Romero, D-Arráez-Roán, A. Segura-Carretero and A. Fernández-
Gutierrez. 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees.
Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 41:1220-1234.
- Crane E. (1975) Honey a comprehensive survey. Bee Research Association 1975. Morrison and Gibb
Ltd, London and Edinburgh. Page 608.
- Donarski, J.A., Jones, S.A., Harrison, M., Driffeld, M., and Charlton, A.J. (2010) Identification of
botanical biomarkers found in Corsican honey. *Journal of food chemistry*, 987-994
- Edwards, W.P. 2000. The Science of sugar confectionery. RSC Paperbacks. Cambridge. 166 p.
- Hasher, C.M. (2000) The changing face of functional food. *Journal of the American
College of Nutrition*, 499-506
- Jackson, E.B. 1990. Sugar Confectionery Manufacture. Blackie and Son Ltd. Glasgow. 424 p.
- Kelly, S., Heaton, K. & Hoogerwerff, J. (2005) Tracing the geographical origin of food : The application of multi-
element and multi-isotope analysis. *Trends in food Science Technology*, 16, 555, -567.
- Khunjan, U, S. Suanphairoch, F. Danthend, Y. Malimad and A. Sawatthum. 2009 Antioxidant activated of
various Thai honey . International Conference on Apithrapy Health Care International Bee Products
Conference & Exposition (HAHB IX). 11th-14th November, 2009. Mae Far Luang University, Chiang
Rai
- Lee, H., J. J. Churey and R. W. Worobo. (2008) Antimicrobial activity of bacterial isolates from
different floral sources of honey . *Journal of Food Microbiology* , 240-244
- Lipp, J. 1994. Der Honing. Eugen Ulmer GmbH & Co. 250pp.

- O.M. Atrooz, M.A. Al-Sabayleh and S.Y. Al-Abbadi. 2008. Studies on physical and chemical analysis of various honey samples and their antioxidant activities. *Journal of Biological Sciences* 8(8):1338-1342.
- Patricia Vit, Antonio Rodriquez-Malaver, David W-Roubik, *et al.* 2009. Expanded parameters to assess the quality of honey from Venezuelan bees (*Apis mellifera*). *Journal of ApiProduct and ApiMedical Sciences* 1(3):72-81.
- Paulis H.S. Kwakman, Anje A. te Velde, Leonie de Boer, Dave Speijer, Christina M.J.E. 2010. How honey kills bacteria. *FASEB journal* 10:81-96.
- Rashed, M.N. and M.E. Soltan.2004. Major and trace element in different type of Egyptian Monofloral and non-floral bee honey. *Journal of Composition And Analysis* 17:725-735
- Saadia M. Hassanein, Hassan M. Gebreel and Abdel-Rahman A. Hassan. 2010. Honey compared with some antibiotics against bacteria isolated from burn-wound infections of patients in Ain Shams University Hospital. *Journal of American Science* 6(10):301-320.
- Sawathum,A. 2008. Composition of Thai stingless bee honey. 9th Asian Apicultural Association (AAA) Conference. 1st-4th November,2008. Hangzhou, China.
- Sawathum,A, S.Tadakittisan and S.Chaiyapruk. 2009. Honey cream Technology Development From Some Flower honey. International Conference on Apithrapy Health Care International Bee Products Conference & Exposition (HAHB IX). 11th-14th November, 2009.Mae Far Luang University,Chiang Rai
- Siddiqui, I. R. and Furgala, B.(1967) Isolation and charactersation of oligosaccharides from honey.part I. Disaccharides. *Journal of Apicultural Research*6, 139- 145
- Siddiqui, I. R. and Furgala, B.(1967) Isolation and charactersation of oligosaccharides from honey.part II. Trisaccharides. *Journal of Apicultural Research*7, 51-59
- Supaporn Sangsrichan and Weeraya Wanson. 2008. The antioxidant capacity of honey samples collected in the North part of Thailand in relationship with its total polyphenol. *KMITL Science Journal* 8:68-73.
- Turkmen, N., Sari, F., Poyrazoglu, E.S., and Y.S. Velioglu. 2006. Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chemistry* 95: 653 – 657.
- Weston,R.J.,Brocklebank,L.K.and Lu,Y.(2000) Identification and quantitative levels of antibacterial components New Zealand honey. *Journal of food chemistry* ,427-435
- White, J. W.(1978) Honey. *Advances in Food Research* 24, 287-374

ภาคผนวก

การคำนวณหาเกสรต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม

$$\text{จำนวนเกสรต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม} = \frac{\text{s.a.} \times \text{m.p.} \times 1}{\text{f.a.} \times \text{s.w.}}$$

s.a. = surface area (mm²)

f.a. = field area (mm²)

m.p. = mean of pollen/field

s.w. = sample weight (g)

ในการทดลองครั้งนี้ ค่า s.a. = 201.14

ค่า f.a. = 0.159

การคำนวณหาปริมาณเกสร คิดเป็นเปอร์เซ็นต์

$$\text{เปอร์เซ็นต์เกสร} = \frac{\text{จำนวนเกสรหลัก}}{\text{จำนวนเกสรทั้งหมด}} \times 100$$

(สำเนา)

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

(ฉบับที่ 211) พ.ศ. 2543

เรื่อง น้ำผึ้ง

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง น้ำผึ้ง อาศัยอำนาจตามความในมาตรา 5 และมาตรา 6(3)(4)(5)(6)(7) และ (10) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 อันเป็นพระราชบัญญัติที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา 29 ประกอบกับมาตรา 35 มาตรา 48 และมาตรา 50 ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทยบัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ดังต่อไปนี้

ข้อ 1 ให้ยกเลิกประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 139 (พ.ศ.2534) เรื่อง น้ำผึ้ง ลงวันที่ 18 ธันวาคม พ.ศ.2534

ข้อ 2 ให้น้ำผึ้งเป็นอาหารที่กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน

ข้อ 3 น้ำผึ้ง หมายความว่า ของเหลวรสหวานซึ่งผึ้งผลิตขึ้น

ข้อ 4 น้ำผึ้ง ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

- (1) มีสี กลิ่นและรส ตามลักษณะเฉพาะของน้ำผึ้ง
- (2) มีน้ำตาลรีดิวซ์คิดเป็นน้ำตาลอินเวอร์ตไม่น้อยกว่าร้อยละ 65 ของน้ำหนัก
- (3) มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 21 ของน้ำหนัก
- (4) มีน้ำตาลซูโครสไม่เกินร้อยละ 5 ของน้ำหนัก
- (5) มีสารที่ไม่ละลายน้ำไม่เกินร้อยละ 0.1 ของน้ำหนัก
- (6) มีเถ้าไม่เกินร้อยละ 0.6 ของน้ำหนัก
- (7) มีค่าความเป็นกรดไม่เกิน 40 มิลลิอิกวาเลนซ์ของกรดต่อ 1 กิโลกรัม
- (8) มีค่าไดเอสเตสแอกติวิตี (Diastase activity) ไม่น้อยกว่า 3 โกเท สเกล (Gothe Scale)
- (9) มีค่าไฮดรอกซีเมทิลฟิวรัล (Hydroxymethylfurfural) ไม่เกิน 80 มิลลิกรัม

ต่อ 1 กิโลกรัม

- (10) ไม่ใช้วัตถุเจือปนอาหาร
- (11) ไม่ใช้สี
- (12) ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค
- (13) ไม่มีสารพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ
- (14) ตรวจพบยีสต์และราไม่เกิน 10 ต่อน้ำผึ้ง 1 กรัม
- (15) ไม่มีสารปนเปื้อน เว้นแต่
 - (15.1) สารหนู ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัม ต่อน้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม
 - (15.2) ตะกั่ว ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัม ต่อน้ำผึ้ง 1 กิโลกรัม

ข้อ 5 ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าน้ำผึ้งเพื่อจำหน่าย ต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร

ข้อ 6 การใช้ภาชนะบรรจุน้ำผึ้ง ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ภาชนะบรรจุ

ข้อ 7 การแสดงฉลากของน้ำผึ้ง ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลาก

ข้อ 8 ประกาศฉบับนี้ ไม่ใช้บังคับกับน้ำผึ้งที่ผลิตเพื่อจำหน่ายโดยสถานที่ผลิตที่ไม่เข้าลักษณะเป็นโรงงานตามกฎหมายว่าด้วยโรงงาน

ข้อ 9 ให้ใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหารหรือใบสำคัญการใช้ฉลากอาหาร ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 139 (พ.ศ.2534) เรื่อง น้ำผึ้ง ลงวันที่ 18 ธันวาคม พ.ศ.2534 ซึ่งออกให้ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับยังคงใช้ได้ต่อไปได้อีกสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 10 ให้ผู้ผลิต ผู้นำเข้าน้ำผึ้งที่ได้รับอนุญาตอยู่ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ ยื่นคำขอรับเลขสารบบอาหารภายในหนึ่งปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ เมื่อยื่นคำขอดังกล่าวแล้วให้ได้รับการผ่อนผันการปฏิบัติตามข้อ 5 ภายในสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ และให้คงใช้ฉลากเดิมที่เหลืออยู่ต่อไปจนกว่าจะหมดแต่ต้องไม่เกินสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 11 ประกาศนี้ ให้ใช้บังคับเมื่อพ้นกำหนดหนึ่งร้อยแปดสิบวันนับแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ 19 กันยายน พ.ศ.2543

กร ทัพพะรังสี

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

(ราชกิจจานุเบกษาฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 118 ตอนพิเศษ 6 ง. ลงวันที่ 24 มกราคม พ.ศ.2544)