

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

1. การศึกษาความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียและยีสต์ก่อโรคของน้ำผึ้ง

จากการนำน้ำผึ้งที่ผลิตโดยผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) 9 ชนิดด้วยกัน คือ น้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลิ้นจี่ น้ำผึ้งทานตะวัน น้ำผึ้งเงาะ น้ำผึ้งนุ่น น้ำผึ้งยางพารา น้ำผึ้งงา และน้ำผึ้งดอกไม้ป่า รวมทั้งสิ้น 29 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นน้ำผึ้งที่ผ่านการบรรจุเป็นผลิตภัณฑ์แล้ว มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่มีความสามารถในการก่อโรคในมนุษย์รวม 16 ชนิดด้วยกันเพื่อทราบแนวโน้มของน้ำผึ้งไทยในการยับยั้งเชื้อว่ามีความสามารถมากน้อยเพียงใด พบว่าน้ำผึ้งแต่ละชนิดมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแต่ละชนิดไม่แตกต่างกันมากนัก ในขณะที่น้ำผึ้งลำไยเป็นน้ำผึ้งที่มีความสามารถโดยรวมในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด ซึ่ง แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบทุกชนิดถูกยับยั้งด้วยน้ำผึ้งที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ระหว่าง 6%-22% (v/v) ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำผึ้ง แต่ไม่สามารถยับยั้งยีสต์ *C. albicans* และ *Sacch. cerevisiae* ได้ ในขณะที่น้ำผึ้งเทียม (artificial honey) ซึ่งมีแต่น้ำตาลเป็นองค์ประกอบต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่าน้ำผึ้งมาก จึงจะสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ แสดงให้เห็นว่าในน้ำผึ้งต้องมีองค์ประกอบอื่นนอกเหนือจากค่า a_w และ osmotic pressure ที่เป็นปัจจัยในการยับยั้งเชื้อ ซึ่งสาเหตุดังกล่าวอาจมาจากค่า pH ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือ องค์ประกอบของสารอื่น ๆ ที่มีอยู่ในน้ำผึ้ง เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างน้ำผึ้งไทยกับน้ำผึ้งมานูก้าซึ่งเป็นน้ำผึ้งที่มี antibacterial activity ที่ดีมาก พบว่าน้ำผึ้งบางตัวอย่างที่นำมาทดสอบให้ผลที่ดีกว่าหรือเท่าเทียมกับน้ำผึ้งมานูก้า ในการยับยั้งแบคทีเรียบางชนิด เช่น น้ำผึ้งป่า น้ำผึ้งนุ่น และน้ำผึ้งลำไยในการยับยั้งเชื้อ *Ps. aeruginosa* น้ำผึ้งป่า และ น้ำผึ้งนุ่น ในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* น้ำผึ้งงา น้ำผึ้งทานตะวัน น้ำผึ้งเงาะ น้ำผึ้งสาบเสือ และ น้ำผึ้งนุ่น ในการยับยั้งเชื้อ *P. mirabilis* น้ำผึ้งป่าในการยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* (ตาราง 3) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าสารบางชนิดที่เป็นองค์ประกอบของน้ำผึ้งเหล่านี้ น่าจะเป็นสาเหตุสำคัญในการยับยั้งเชื้อดังกล่าว ซึ่งสารเหล่านั้นมาจากพืชอาหารของผึ้งที่ผ่านมาจากน้ำหวานที่ผึ้งไปเก็บมา (Frankel *et al.*, 1998; Chen *et al.*, 2002; Al-Mamary *et al.*, 2002; Gheldof *et al.*, 2002; Gheldof and Engeseth, 2002; Yao *et al.*, 2003)) ดังเช่น ในน้ำผึ้งมานูก้า สารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเป็นสารในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก (Weston, 1998) แต่จากการทดลองหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในงานวิจัยนี้พบว่า น้ำผึ้งเงาะ และ น้ำผึ้งนุ่น มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สูง ซึ่งเป็นน้ำผึ้งชนิดเดียวกับน้ำผึ้งที่ให้ความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ดีซึ่งเป็นน้ำผึ้งลำไย และ น้ำผึ้งป่า ดังนั้นความสามารถในการยับยั้งของน้ำผึ้งไทยน่าจะมาจาก

สารอินทรีย์เป็นองค์ประกอบของน้ำผึ้งมากกว่าสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเป็นสิ่งที่น่าสนใจและควรศึกษาต่อไปในอนาคต เมื่อพิจารณาระหว่างแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ พบว่าน้ำผึ้งส่วนใหญ่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยเฉพาะ *S. marcescens* มีความสามารถต้านทานต่อน้ำผึ้งทุกชนิดได้สูง แต่ในแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* กับ MRSA พบว่าน้ำผึ้งส่วนใหญ่ยับยั้งเชื้อ MRSA ซึ่งเป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางการแพทย์เป็นอย่างมาก เนื่องจากความสามารถพิเศษของเชื้อในการต้านทานต่อยาปฏิชีวนะได้สูงซึ่งเป็นปัญหาต่อการรักษาพยาบาล ได้ดีกว่าเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นคุณลักษณะที่ดีของน้ำผึ้งไทยเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ต่อไป ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Chanchao (2009) แต่น้ำผึ้งที่เขาศึกษาได้มาจากผึ้งหลวง (*Apis dorsata*) และทดสอบโดยวิธี well diffusion method พบว่ายับยั้ง *S. aureus* (3.6 cm) ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่า *E. coli* (2.8 cm) ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ นอกจากนี้ในการศึกษาของ Nzeako and Hamdi (2000) ซึ่งตรวจสอบน้ำผึ้งที่จำหน่ายทางการค้า 5 ชนิด Black forest, orange flower, Forest, Summer flowers and Turkish พบว่าไม่สามารถยับยั้ง *S. aureus*, *E. coli* และ *Ps. aeruginosa* ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 40% แสดงให้เห็นว่ายับยั้งได้น้อยกว่าน้ำผึ้งที่ใช้ในการทดลองนี้ (ตาราง 3) นอกจากนี้ Lusby *et al.* (2005) พบว่าน้ำผึ้งที่เขาใช้ทดสอบไม่สามารถยับยั้ง *S. marcescens* และ *C. albicans* ได้ ซึ่งตรงกับการศึกษาของเราตรงที่ไม่สามารถยับยั้ง *C. albicans* ได้เช่นกัน แต่ในทางตรงข้ามในการศึกษาของ Theunissen *et al.* (2001) น้ำผึ้ง wasbessie สามารถยับยั้ง *C. albicans* ได้ ในขณะที่น้ำผึ้ง bluegum และน้ำผึ้ง fynbos สามารถยับยั้งได้เพียงบางส่วน (partial inhibition) และเหตุผลที่ไม่สามารถยับยั้ง *C. albicans* ได้ อาจอธิบายได้ว่ามีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้อง คือ pH ของน้ำผึ้ง เนื่องจากน้ำผึ้งมีค่า pH อยู่ระหว่าง 3.77-4.01 ซึ่งเป็นค่า pH ที่ต่ำจึงสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้แต่กับยีสต์และรา นั้น เป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถเจริญได้ในช่วง pH ที่ต่ำกว่าแบคทีเรีย ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่า pH ที่ต่ำที่สุดที่ *C. albicans* สามารถเจริญได้เป็น 2.2 ซึ่งเป็นช่วง pH ที่กว้างมากสำหรับยีสต์ ดังนั้นค่า pH ของน้ำผึ้งจึงไม่มีความสำคัญเพียงพอต่อการยับยั้งการเจริญของยีสต์ นอกจากค่า pH แล้ว โครงสร้างของยีสต์เองก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ทนทานต่อน้ำผึ้งมากกว่าแบคทีเรีย

การใช้น้ำผึ้งในการยับยั้งเชื้อจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากสามารถยับยั้งเชื้อได้หลายชนิดทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อที่มีความสำคัญในการต่อต้านยาปฏิชีวนะซึ่งเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดปัญหาต่อการแพทย์ในปัจจุบันเป็นอย่างมาก น้ำผึ้งสามารถใช้เป็นสิ่งที่ป้องกันหรือรักษาโรคบางชนิดได้ เช่น มีรายงานว่าน้ำผึ้งสามารถป้องกัน

การติดเชื้อทางผิวหนังที่เกิดจากโรค Ichthyosis ซึ่งเป็นโรคทางผิวหนังที่มีลักษณะของผิวหนังแห้ง ตกสะเก็ด ก่อให้เกิดบาดแผลขึ้นได้ (Siu-wan, 2006)

2. การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณของ phenolic compound

ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้ง DPPH radical ของตัวอย่างน้ำผึ้งทั้งหมด จากการทดลองพบว่า สารละลายสีม่วงของ DPPH radical เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมจากสีม่วงเข้มก็จางลง หรือมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ต่ำลงเรื่อยๆ เมื่อความเข้มข้นของน้ำผึ้งเพิ่มมากขึ้น และเมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณเป็น % inhibition ของการยับยั้ง DPPH radical พบว่า % inhibition แปรผันตรงกับความเข้มข้นของน้ำผึ้ง แสดงว่าองค์ประกอบของน้ำผึ้งมีสารซึ่งสามารถเป็นตัวให้ H แก่ DPPH radical แล้วเปลี่ยนเป็นสารที่มีความคงตัว ซึ่งสารนั้นก็คือน้ำผึ้งต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Jadhav *et al.*, 1995; Yamaguchi *et al.*, 1998)

จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้ง DPPH radical จากค่า IC_{50} ของน้ำผึ้งพบว่ามีความอยู่ระหว่าง 3.15-29.94 mg/ml โดยที่น้ำผึ้งเงาะมีค่า RSA อยู่ในช่วงที่ดีที่สุด ($IC_{50} = 4.70-6.89$ mg/ml) ซึ่งมีค่า IC_{50} น้อยกว่าน้ำผึ้งจากการทดลองของ Beretta *et al.*, 2005 ถึง 10 ตัวอย่างจากทั้งหมด 14 ตัวอย่างด้วยกัน และในการศึกษาของ Buratti *et al.*, 2007 พบว่าความสามารถในการเป็น RSA ของน้ำผึ้งทั้ง 12 ตัวอย่างซึ่งมาจากพืชให้น้ำหวานคือ *Citrus spp.*, *Rhododendron spp.* และ *Robinia pseudoacacia* L. มีความสามารถที่น้อยกว่าน้ำผึ้งเงาะ (4.7-6.89 mg/ml) อย่างชัดเจน และเมื่อเรียงลำดับความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งไทยจากมากไปน้อย โดยเปรียบเทียบจากค่า IC_{50} ได้เป็น น้ำผึ้งเงาะ > น้ำผึ้งนุ่น > น้ำผึ้งลำไย > น้ำผึ้งสาบเสือ > น้ำผึ้งทานตะวัน > น้ำผึ้งป่า > น้ำผึ้งงา > น้ำผึ้งยางพารา > น้ำผึ้งลิ้นจี่

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีความสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระหรือปฏิกิริยาออกซิเดชันตัวหนึ่ง ส่วนความสามารถในการต่อต้านหรือยับยั้งจะมากหรือน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในน้ำผึ้งแต่ละชนิดซึ่งสารดังกล่าวก็มาจากพืชให้น้ำหวานแก่ผึ้งนั่นเอง จึงอาจกล่าวได้ว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกันในน้ำผึ้งแต่ละชนิดเหตุผลหนึ่งมาจากความแตกต่างของชนิดพืชอาหารของผึ้ง (Baltrušaitytė, 2007) เมื่อทำการทดสอบตัวอย่างของน้ำผึ้งทั้งหมดให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 262.34-1,406.93 mg gallic acid/kg ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำผึ้งชนิดอื่นจากต่างประเทศพบว่าน้ำผึ้งไทยให้ค่า phenolic content มากกว่าน้ำผึ้งในการศึกษาของ Beretta *et al.*, 2005 คือน้ำผึ้ง Honeydew, Chestnut, Multi flora, Dandelion, Chicory, Sulla, Acacia and Clover

นอกจากนี้ น้ำผึ้งงาวยังมี phenolic content มากกว่า Burkina Fasan honey (27 ตัวอย่าง) (Meda, 2005) และน้ำผึ้งทานตะวันที่ผลิตในประเทศไทยมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (479.22-613.76 mg gallic acid/kg) มากกว่าน้ำผึ้งทานตะวันที่ผลิตในประเทศโรมาเนีย (200-450 mg gallic acid/kg) (Al *et al.*, 2009) ซึ่งคุณสมบัติด้านอนุมูลอิสระดังได้กล่าวมาแล้วนั้นมีความแตกต่างกันในน้ำผึ้งแต่ละชนิด นอกจากนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลักคือชนิดของพืชอาหารแล้ว ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยรองคือ กระบวนการผลิต การจัดการ และการเก็บรักษา ซึ่งทำให้เกิดความแตกต่างกันของค่า RSA และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดระหว่างตัวอย่างของน้ำผึ้งชนิดเดียวกัน (Beretta *et al.*, 2005) ตัวอย่างเช่นน้ำผึ้งยางพารา และเมื่อสังเกต สีของน้ำผึ้งพบว่า น้ำผึ้งสีเข้มมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าน้ำผึ้งสีอ่อนซึ่งตรงกับ การรายงานของ Frankel *et al.*, 1998 และ Taormina *et al.*, 2001

3. การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำผึ้ง

จากการนำน้ำผึ้งมาทดสอบหาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่าน้ำผึ้งมีคุณสมบัติที่ดี จึงได้นำน้ำผึ้งมาศึกษาหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อ โดยเลือกที่จะศึกษาหาสารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ซึ่งจัดเป็นสารประกอบฟีนอลิกประเภทหนึ่ง เนื่องจากเป็นสารที่มีคุณสมบัติประโยชน์มากมายดังที่ได้กล่าวไปแล้วในขั้นต้น นอกจากนี้แล้วยังหาปริมาณของสาร ellagic acid ซึ่งเป็นกรดฟีนอลิกเพิ่มขึ้นมาอีกหนึ่งชนิดด้วย โดยใช้วิธี column chromatography ในการแยก สารและหาองค์ประกอบของสารด้วยเทคนิค HPLC ผลที่ได้พบว่าน้ำผึ้งไทยทุกชนิดมีสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ แต่มีความแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ ซึ่งน้ำผึ้งที่ให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่โดดเด่น ได้แก่ น้ำผึ้งงาวยังให้ปริมาณของสาร luteolin เท่ากับ 578.50 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกว่าในน้ำผึ้งงาวยังมีคุณสมบัติพิเศษในการป้องกันและลดการอักเสบ (inflammation) ซึ่งเป็นตัวควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน ส่งเสริม carbohydrate metabolism ต่อต้านอาการแพ้ นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินหายใจ เช่น โรคหอบหืด และ โรคหลอดเลือดอักเสบ (Jang *et al.*, 2008; Wang, 2000; Peng *et al.*, 1981) ส่วนน้ำผึ้งยางพารา และ น้ำผึ้งลินจี่ มีปริมาณสาร kaempferol เท่ากับ 933.48 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ และ 546.22 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ ซึ่งสารนี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบสูง สามารถช่วยรักษาโรคมะเร็ง โรคหัวใจ โรคหลอดเลือด ความผิดปกติทางสมอง และ โคเลสเตอรอล (Lau, 2008) เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำผึ้งจากประเทศพบว่าน้ำผึ้งโรบีเนียที่ผลิตใน Croatia ไม่พบสาร myricetin ซึ่งน้ำผึ้งไทยทุกชนิดพบสารนี้ยกเว้นน้ำผึ้งลำไย รวมทั้งน้ำผึ้งโรบีเนียหลายชนิดยังพบปริมาณสาร quercetin (6.3-30.2 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$),

kaempferol (13.7-27.5 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), chrysin (74.5-163.1 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) และ luteolin (2.2-2.9 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) ต่ำกว่าน้ำผึ้งไทย โดยเฉพาะปริมาณสาร luteolin ที่ต่ำกว่าน้ำผึ้งไทยทุกชนิด (Kenjerić *et al.*, 2007) ในน้ำผึ้ง Australian jelly bush และ New Zealand manuka พบว่ามีปริมาณสาร luteolin (260 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ และ 380 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ตามลำดับ) ต่ำกว่าน้ำผึ้งเงาะ มีปริมาณสาร chrysin (50 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ และ 380 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ตามลำดับ) ต่ำกว่าน้ำผึ้งนุ่นและน้ำผึ้งเงาะ และมีปริมาณสาร kaempferol (60 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ และ 150 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ตามลำดับ) ซึ่งต่ำกว่าน้ำผึ้งเงาะ ยางพารา ลินจี ส่วน kaempferol (60 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) ในน้ำผึ้ง Australian jelly bush ยังต่ำกว่าน้ำผึ้งลำไยและน้ำผึ้งงาอีกด้วย (Yao *et al.*, 2003) นอกจากนี้ในน้ำผึ้งไทยมีลักษณะเด่นกว่าน้ำผึ้งอื่นตรงที่พบสาร ฟลาโวนอยด์บางชนิดที่ไม่พบในน้ำผึ้งชนิดอื่น เช่น chrysin ไม่พบในน้ำผึ้ง aloe, mint, marigold, chamomile และ Hawaiian Christmas berry quercetin ไม่พบในน้ำผึ้ง buckwheat, Hawaiian Christmas berry, tupelo และ fireweed สุกท้าย kaempferol ไม่พบในน้ำผึ้ง Hawaiian Christmas berry และ fireweed (Gheldof *et al.*, 2002; Socha *et al.*, 2009) อย่างไรก็ตามชนิดของฟลาโวนอยด์ที่หาพานี้ยังมีจำนวนน้อยอยู่เนื่องจากบประมาณที่มีอยู่อย่างจำกัด ดังนั้นในส่วนนี้จึงเป็นสิ่งที่น่าศึกษาต่อไปในอนาคต

4. การพัฒนาผลิตภัณฑ์รักษาสิวจากน้ำผึ้ง

การทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิวทั้ง 2 ชนิด คือ *S. aureus* และ *P. acnes* พบว่า น้ำผึ้งลำไยให้คุณสมบัติที่ดีและเหมาะสมต่อการนำมาใช้ เนื่องจากประเด็นที่สำคัญคือ ให้ความสามารถในการยับยั้งที่ดีซึ่งมีค่าเฉลี่ยของค่า MIC สำหรับการยับยั้ง *S. aureus* และ *P. acnes* เท่ากับ 9% และ 7% (v/v) ตามลำดับ จึงนำน้ำผึ้งลำไย-4 เป็นตัวแทนของน้ำผึ้งชนิดต่าง ๆ มาใช้ในการพัฒนารับเจลรักษาสิวเนื่องจากให้ค่า MIC ที่ต่ำมีค่าเท่ากับ 6% (v/v) ทั้ง 2 เชื้อทดสอบ จากการทดสอบการละลายของน้ำผึ้งได้ตัวทำละลายที่เหมาะสมคือ glycerin เนื่องจากทำละลายได้ดี และยังเป็นสารให้ความชุ่มชื้นแก่เจล แต่ไม่สามารถละลายได้ใน ethanol แม้ที่ความเข้มข้น 2% ส่วน salicylic acid นั้นละลายได้ใน Polyethylene glycol 16% แต่ใช้ที่ความเข้มข้นที่ 20% เพื่อการละลายที่ดีขึ้นและป้องกันการไม่ละลายเมื่ออยู่ร่วมกับสารตัวอื่น หลังจากได้ตัวอย่างน้ำผึ้งและทดสอบความสามารถในการละลายของน้ำผึ้ง และ salicylic acid แล้วทำการหาชนิดและปริมาณของสารก่อเจลที่เหมาะสม ซึ่งสารก่อเจลที่ใช้ในการทดสอบเบื้องต้นทั้งหมด ได้แก่ carbopol 940, hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), hydroxyethyl cellulose (HEC) และ sodium carboxymethylcellulose (SCMC) ผลจากการเตรียมเจลน้ำผึ้งที่มี HPMC, HEC และ SCMC เป็นสารก่อเจลพบว่าสารก่อเจลดังกล่าวไม่

เหมาะสมต่อการนำมาทำเจลน้ำผึ้งเนื่องจากไม่มีความคงตัวเมื่อเก็บเจลไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือน ส่วนตำรับ carbopol 940 ที่มีการเติม triethanolamine ไม่สามารถยับยั้ง *P. acnes* ได้ จึงมีการปรับตำรับนำ triethanolamine ออกผลที่ได้พบว่าสามารถยับยั้ง *P. acnes* ได้

ดังนั้นจึงนำ carbopol 940 มาตั้งตำรับ ได้ 3 ตำรับด้วยกันดังที่ได้กล่าวแล้วในวิธีการทดลอง พบว่าตำรับที่ 1 หรือตำรับที่ใช้เป็นเจลพื้นหลังเตรียมเสร็จได้เจลที่มีลักษณะขาวขุ่นเล็กน้อย และมีความหนืดไม่มากนักเนื่องจากในตำรับไม่มีการเติม triethanolamine ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เจลมีความหนืด และความใสที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อนำมาทาลงบนผิวหนังพบว่าการกระจายตัวที่ดีไม่มีความเหนอะหนะ สำหรับตำรับที่ 2 ซึ่งเป็นตำรับที่มีการเติมน้ำผึ้งลงไป 30% โดยใช้น้ำผึ้งแทนที่น้ำในตำรับ ได้เจลที่มีลักษณะสีเหลืองใส มีความหนืดมากกว่าในตำรับที่ 1 และมีกลิ่นหอมของน้ำผึ้งเมื่อนำมาทาลงบนผิวหนังพบว่าการกระจายตัวที่ดี มีความเหนอะหนะเล็กน้อย ส่วนในตำรับที่ 3 นั้นมีการเติม vitamin E และ salicylic acid เพิ่มเข้าไปในตำรับเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการลบเลือนริ้วรอยที่เกิดจากผิว เจลที่ได้ในตำรับนี้มีลักษณะสีเหลืองขุ่น มีกลิ่นของน้ำผึ้งเล็กน้อย เมื่อนำมาทาลงบนผิวหนังพบว่าการกระจายตัวที่ดี แต่มีความเหนอะหนะ

เมื่อนำมาทดสอบความคงตัวของตำรับในสภาวะเร่งโดยวิธี heating cooling พบว่าตำรับที่ 1 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงใด ๆ ทั้ง สี กลิ่น ฟองอากาศ การแยกชั้น คราบ ความเหนอะหนะ ความหนืด และค่า pH ในตำรับที่ 2 มีการเปลี่ยนแปลงของสีโดยมีสีที่เข้มขึ้นเล็กน้อย ทางด้านความหนืดและค่า pH เปลี่ยนไปอย่างมีนัยยะสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% (ภาคผนวก ซ) ส่วนตำรับที่ 3 มีการเปลี่ยนแปลงของกลิ่น และค่า pH (ภาคผนวก ซ) ดังนั้นในตำรับที่ 2 และ 3 อาจเก็บไว้ได้ไม่ถึง 2 ปี เนื่องจากเนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพไปบางส่วน

เมื่อนำตำรับเจลมาทดสอบความคงตัวโดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ($25^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}$) 4°C และ 45°C เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าที่อุณหภูมิ 45°C เจลทุกตำรับไม่มีความคงตัวเนื่องจากความร้อนที่มากเกินไปทำให้ลักษณะทางกายภาพของเจลเปลี่ยนแปลงไปทั้งสี กลิ่น และความหนืด ยกเว้นค่า pH ในตำรับที่ 1 และจากผลการทดลองพบว่าเจลทุกตำรับสามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง และ 4°C ได้ ถึงแม้ค่า pH จะเปลี่ยนแปลงไปอย่างมีนัยยะสำคัญ (ภาคผนวก ซ) แต่ค่า pH ที่ได้ยังอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมเนื่องจากสภาพผิวปกติของคนเราอยู่ในช่วง pH 4-6 (พิมพร, 2544)

ถึงแม้ว่าการทดสอบความคงตัวทั้งวิธี heating cooling และการตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 3 เดือน เจลทั้ง 3 ตำรับก็ไม่เกิดการแยกชั้น แต่พบการหดตัวของเจลในสูตรที่ 3 ของอุณหภูมิห้อง และตำรับที่ 2 ที่อุณหภูมิห้อง หนึ่งในสองข้อสังเกตได้จากการมีของเหลวแยกตัว

ออกมา แต่มีเพียงเล็กน้อยไม่มากนัก ดังนั้นถือได้ว่าเจลทั้ง 3 ตำรับมีความคงตัวทางกายภาพที่อุณหภูมิห้อง และ 4°C แต่เจลตำรับที่ 2 และ 3 ไม่มีความคงตัวในสภาวะเร่ง

ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* TISTR 517 และ *P. acnes* DMST 14916 ของเจลพื้นตำรับที่ 1 นั้นสามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้แต่ไม่สามารถยับยั้ง *P. acnes* ส่วนเจลน้ำผึ้ง 2 ตำรับหลังจากเตรียมทันทีพบว่า เจลน้ำผึ้งตำรับที่ 2 และ 3 สามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดได้โดยที่ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่าเชื้อ *P. acnes* และตำรับที่ 3 สามารถยับยั้งได้ดีกว่าตำรับที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบกับเจล mentholatum แล้ว เจลน้ำผึ้งสามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีกว่า แต่ยับยั้ง *P. acnes* ได้น้อยกว่าเจล mentholatum

ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* TISTR 517 และ *P. acnes* DMST 14916 หลังทดสอบความคงตัวด้วยวิธี heating cooling พบว่ายังสามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดได้อยู่ แต่หลังทดสอบความคงตัวในระยะ 3 เดือนพบว่าเจลน้ำผึ้งไม่สามารถยับยั้ง *P. acnes* ได้ แต่สามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้ดั้งเดิมแต่เส้นผ่านศูนย์กลางวงใสลดลงเล็กน้อย

การที่ตำรับที่ 3 สามารถยับยั้งได้ดีกว่าตำรับที่ 2 อาจเป็นเพราะ salicylic acid ที่เติมลงไปมีส่วนช่วยในการยับยั้งเชื้อ ในขณะที่หลังการทดสอบความคงตัวในระยะ 3 เดือนไม่สามารถยับยั้ง *P. acnes* ได้ อาจเป็นเพราะสารที่มีความสำคัญในการยับยั้งมีปริมาณน้อย หรือ สลายตัวไป แต่อย่างไรก็ตามเจลน้ำผึ้งทั้ง 2 ตำรับสามารถป้องกันและรักษาผิวที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *S. aureus* ได้

ข้อเสนอแนะ

1. ผลการทดลองในครั้งนี้ ยืนยันความเป็นไปได้ในการใช้น้ำผึ้งชนิดต่าง ๆ ของไทยในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการก่อโรครดักที่ใช้ในการทดลองนี้ได้จริง และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีด้วย ซึ่งน่าจะเป็นแนวทางที่ดีในการใช้สารจากธรรมชาติ เพื่อทดแทนสารเคมีหรือยาปฏิชีวนะ จึงสามารถนำมาเป็นองค์ประกอบของตัวยา หรือเครื่องสำอางได้ นอกจากนี้อาจใช้ข้อมูลที่ได้เป็นการเพิ่มคุณค่าของน้ำผึ้งให้สูงขึ้นซึ่งอาจมีผลทำให้อุตสาหกรรมน้ำผึ้งไทยเติบโตขึ้นและเป็นการเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงผึ้งอีกทางหนึ่ง
2. จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารที่มีความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในงานวิจัยนี้นั้น ยังเป็นเพียงส่วนน้อย ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับชนิด

และปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และสารอื่น ๆ ที่มี
คุณประโยชน์ต่อไปในอนาคต

3. ผลผลิตภัณฑ์รักษาผิวอาจมีการพัฒนาสูตร โดยการแต่งกลิ่นด้วยน้ำมันหอมระเหยที่มี
ฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียหรือผสมกับสมุนไพร เพื่อเป็นการเสริมฤทธิ์กับน้ำผึ้ง
ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย
4. เมื่อศึกษาคุณสมบัติและคุณประโยชน์ของน้ำผึ้งดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ยังมีอีก
คุณสมบัติหนึ่งที่น่าสนใจ คือ non peroxide activity (NPA) ซึ่งเป็นความสามารถใน
การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่โดดเด่นของน้ำผึ้งมานูก้า โดยพบว่าสารที่ทำให้เกิด NPA
คือ methylglyoxal ซึ่งไม่ได้เกิดมาจากกระบวนการของเอนไซม์ (non enzymatic)
แตกต่างกับ peroxide activity (PA) ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่พบในน้ำผึ้งโดยทั่วไป และ
เกิดมาจากเอนไซม์ glucose oxidase หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือ การยับยั้งเกิดจากผล
ของ H_2O_2 โดยที่ NPA นี้มีข้อดี คือ มีความเสถียรสูงต่อแสง และความร้อน ทำให้
สามารถเก็บรักษาน้ำผึ้งไว้ได้นานและยังคงคุณสมบัติที่ดีอยู่ ซึ่งตรงกันข้ามกับ PA
ดังนั้นน้ำผึ้งไทยแต่ละชนิดก็ควรที่จะมีการตรวจสอบว่ามีคุณสมบัติเป็น NPA หรือ
PA เพื่อเป็นการยกระดับน้ำผึ้งไทย