

การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางโปรตีนโอมิกส์ของน้ำผึ้งดอกลำไยจากแหล่งภูมิศาสตร์ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยด้วยเทคนิค SDS-PAGE
PROTEOMIC IDENTIFICATION OF LONGAN FLORAL HONEY FROM GEOGRAPHICAL ORIGINS IN NORTHERN AND NORTHEASTERN THAILAND USING SDS-PAGE TECHNIQUE

เอกวิทย์ ตรีเนตร¹, อาทิตยา พิศแสง¹, อัจฉรา แก้วกล้า^{1,*}, สิริวัฒน์ บุญชัยศรี², วินัย วิริยะอลงกรณ์³ และวัชรินทร์ จันทวรรณ⁴

Ekawit Threenet¹, Atitaya Pitsawang¹, Achara Kleawkla^{1,*}, Siritwat Boochaisri², Winai Wiriyalongkorn³ and Watcharin Jantawan⁴

¹ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

² สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000

³ สาขาวิชาไม้ผล คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

⁴ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน: อัจฉรา แก้วกล้า อีเมล: achara_kleawkla@yahoo.co.uk

บทคัดย่อ:

การศึกษาลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งจากดอกลำไย ได้ดำเนินการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่มาจากแหล่งทางภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกัน 7 แหล่ง รวมทั้งสิ้น 10 ยี่ห้อ ได้แก่ น้ำผึ้งจากจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน เชียงราย น่าน พะเยา อุดรดิตถ์ และหนองบัวลำภู พบว่าน้ำผึ้งจากจังหวัดเชียงราย (ยี่ห้อดอยผาผึ้ง) มีค่าสีอยู่ในช่วง water white ขณะที่น้ำผึ้งจากจังหวัดลำพูน น่าน และอุดรดิตถ์ (ยี่ห้อรวงทอง รัตนดาฟาร์ม และน้ำผึ้งน้ำริด) มีค่าสีอยู่ในช่วง extra white ส่วนผลิตภัณฑ์อื่น ๆ มีค่าสีอยู่ในช่วง white เมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานสี USDA color standard designation เมื่อวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีค่าอยู่ในช่วง 4.5–6.9 ค่าการนำไฟฟ้ามีค่าอยู่ในช่วง 62.90–609.27 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ค่าความชื้นมีค่าอยู่ในช่วง 14.03–16.68% และค่าความหวานมีค่าอยู่ในช่วง 75.00–78.83 °Brix ซึ่งค่าส่วนใหญ่อยู่ภายในเกณฑ์มาตรฐาน

สำหรับการศึกษาปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งด้วยเทคนิคโปรตีนโอมิกส์ พบว่าความเข้มข้นของโปรตีนในผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งมีค่าอยู่ในช่วง 10.01–16.53 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษารูปแบบการแสดงออกของโปรตีนจากผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งด้วยเทคนิค SDS-PAGE ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม คือ สภาวะเจลนอน-เนทีฟ (non-native gel) ร่วมกับสภาวะตัวอย่างรีดิวซิง (reducing condition) บนเจล 15% โดยหยอดตัวอย่างที่ความเข้มข้น 180 ไมโครกรัม/หลุม พบแถบโปรตีนที่สามารถบ่งชี้ความแตกต่างของผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งได้ทั้งหมด 12 แถบ ได้แก่ 20.6, 33.2, 38.3, 41.1, 43.5, 48.5, 58.0, 70.4, 79.7, 92.5, 130.1 และ 169.3 kDa ตามลำดับ โดยมีแถบโปรตีนที่ปรากฏร่วมกันในทุกตัวอย่าง 5 แถบ ได้แก่ 48.5, 58.0, 70.4, 130.1 และ 169.3 kDa ตามลำดับ สำหรับแถบโปรตีนที่สามารถบ่งชี้แหล่งทางภูมิศาสตร์ มีทั้งหมด 7 แถบ ได้แก่ แถบโปรตีนขนาด 20.6 kDa พบในตัวอย่างจากจังหวัดลำพูน (ยี่ห้อรวงทอง) เชียงราย (ยี่ห้อบุษราคัมอันนี้) และน่าน (ยี่ห้อรัตนดาฟาร์ม) แถบโปรตีนขนาด 33.2 kDa พบในตัวอย่างจากจังหวัดเชียงราย (ยี่ห้อบุษราคัมอันนี้) น่าน (ยี่ห้อรัตนดาฟาร์ม) และอุดรดิตถ์ (ยี่ห้อน้ำผึ้งน้ำริด) แถบโปรตีนขนาด 38.3 kDa พบในตัวอย่างจากจังหวัดเชียงราย (ยี่ห้อบุษราคัมอันนี้) และน่าน (ยี่ห้อรัตนดาฟาร์ม) แถบโปรตีนขนาด 79.7 kDa ปรากฏในตัวอย่างจากทั้ง 5 จังหวัด ได้แก่ ลำพูน (ยี่ห้อรวงทอง) เชียงราย (ยี่ห้อบุษราคัมอันนี้) น่าน (ยี่ห้อรัตนดาฟาร์ม) อุดรดิตถ์ (ยี่ห้อน้ำผึ้งน้ำริด) และหนองบัวลำภู (ยี่ห้อสุวรรณ) และกลุ่มแถบโปรตีนขนาด 41.1, 43.5 และ 92.5 kDa พบเฉพาะในตัวอย่างจากจังหวัดอุดรดิตถ์ (ยี่ห้อน้ำผึ้งน้ำริด) ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นแถบโปรตีนบ่งชี้ความแตกต่างของแหล่งทางภูมิศาสตร์ของ

ผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งได้ เมื่อวิเคราะห์ชนิดของโปรตีนด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี (LC-MS/MS) จากแถบโปรตีนทั้งหมด 8 แถบที่ส่งตรวจ พบโปรตีนบ่งชี้ที่สำคัญ 2 ชนิด ได้แก่ FAD-binding PCMH-type domain-containing protein (60.0 kDa) ซึ่งมีการแสดงออกในเจล 7 ตำแหน่ง ได้แก่ 159.5, 128.2, 72.9, 57.7, 50.7, 43.5 และ 41.1 kDa ตามลำดับ โดยที่ตำแหน่ง 43.5 และ 41.1 kDa พบเฉพาะในตัวอย่างน้ำผึ้งจากดอกกล้วยที่มาจากจังหวัดอุดรดิตถ์เพียงแหล่งเดียว ซึ่งอาจนำมาใช้เป็นโปรตีนบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ได้ และ Alpha-carbonic anhydrase domain-containing protein (31.0 kDa) ซึ่งมีการแสดงออกในเจลที่ตำแหน่งแถบโปรตีน 92.5 kDa พบเฉพาะในน้ำผึ้งจากดอกกล้วยที่มาจากจังหวัดอุดรดิตถ์เช่นกัน ซึ่งอาจนำมาใช้เป็นโปรตีนบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ได้ อย่างไรก็ตาม งานวิจัยครั้งนี้เป็นเพียงการทดลองพื้นฐานเบื้องต้นที่จะเป็นแนวทางในการค้นหาโปรตีนบ่งชี้ที่มีความชัดเจนมากยิ่งขึ้น เพื่อนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ความแตกต่างด้านแหล่งทางภูมิศาสตร์ของน้ำผึ้งจากดอกกล้วย โดยในอนาคตจะดำเนินการศึกษาในตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งจากดอกกล้วยที่มีจำนวนมากขึ้น และครอบคลุมความหลากหลายของแหล่งทางภูมิศาสตร์ให้กว้างขวางยิ่งขึ้น

คำสำคัญ : น้ำผึ้งจากดอกกล้วย, โปรตีนโอมิกส์, แหล่งกำเนิดทางภูมิศาสตร์

Abstract:

The physical and chemical characteristics of longan flower honey products from seven geographically distinct origins, comprising ten commercial brands from Chiang Mai, Lamphun, Chiang Rai, Nan, Phayao, Uttaradit, and Nong Bua Lamphu provinces, were systematically examined. The color analysis revealed that honey from Chiang Rai (Doi Pha Feng brand) fell within the water white range, whereas honey from Lamphun, Nan, and Uttaradit (Ruang Thong, Rattana Farm, and Nam Rit brands, respectively) was classified within the extra white range, while the remaining products were classified within the white range, as determined by comparison with the USDA color standard designation. Physicochemical analysis demonstrated that pH ranged from 4.5 to 6.9, electrical conductivity from 62.90 to 609.27 $\mu\text{S}/\text{cm}$, moisture content from 14.03 to 16.68%, and sweetness from 75.00 to 78.83 °Brix, most of which were within acceptable standard limits.

Protein quantification in honey products by proteomic analysis revealed that total protein concentrations ranged from 10.01 to 16.53 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, with no statistically significant differences among samples. Protein expression profiling by SDS-PAGE under optimized conditions—specifically, non-native gel electrophoresis with a reducing sample buffer at 15% gel concentration and a loading concentration of 180 μg per well—identified 12 protein bands distinguishable among honey products, at 20.6, 33.2, 38.3, 41.1, 43.5, 48.5, 58.0, 70.4, 79.7, 92.5, 130.1, and 169.3 kDa, respectively. Five bands (48.5, 58.0, 70.4, 130.1, and 169.3 kDa) were detected across all samples, while seven bands were indicative of geographic origin: a 20.6 kDa band was detected in samples from Lamphun (Ruangthong brand), Chiang Rai (Busarakam Honey brand), and Nan (Rattana Farm brand); a 33.2 kDa band in samples from Chiang Rai (Busarakam Honey brand), Nan (Rattana Farm brand), and Uttaradit (Namphueng Namrid brand); and a 38.3 kDa band in samples from Chiang Rai (Busarakam Honey brand) and Nan (Rattana Farm brand). The 79.7 kDa band was present in all samples from five provinces, namely Lamphun (Ruangthong brand), Chiang Rai (Busarakam Honey brand), Nan (Rattana Farm brand), Uttaradit (Nam Rit honey brand), and Nong Bua Lamphu (Suwan brand). Notably, protein bands at 41.1, 43.5, and 92.5 kDa were detected exclusively in samples from Uttaradit province (Nam Rit honey brand), indicating their potential utility as geographical biomarkers. Protein identification by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) analysis of eight selected protein bands revealed two key biomarker proteins: FAD-binding PCMH-type domain-containing protein (60.0 kDa), which was expressed across seven gel positions at 159.5, 128.2, 72.9, 57.7, 50.7, 43.5, and 41.1 kDa, respectively. Notably, expression at 43.5 and 41.1 kDa was exclusively detected in longan flower honey from

Uttaradit province, suggesting its potential as a geographic protein marker. Alpha-carbonic anhydrase domain-containing protein (31.0 kDa) was expressed at the 92.5 kDa gel position and was likewise detected solely in longan honey from Uttaradit province, further supporting its potential as a geographic indicator. Nevertheless, this study represents a preliminary investigation providing a foundational framework for identifying more precise protein biomarkers to differentiate the geographic origins of longan flower honey. Future studies should incorporate larger sample sets and a broader range of geographic origins to improve the robustness and applicability of the findings.

Keywords: longan flower honey, proteomics, geographic origin