บทที่ 4
ผลการศึกษาและวิจารณ์

4.1 ผลการศึกษาคุณภาพทางเคมี ปริมาณไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ คุณภาพทางกายภาพ และทางจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน

น้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านได้นำมาศึกษาคุณภาพทางเคมี ปริมาณไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ คุณภาพทางกายภาพ และทางจุลินทรีย์ เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

4.1.1 ผลการศึกษาคุณภาพทางเคมีของน้ำผึ้ง

ในการศึกษาคุณภาพทางเคมีของน้ำผึ้งได้ผลดังตารางที่ 13 พบว่าน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านและน้ำผึ้งสาบเสือมีปริมาณความชื้นสูงกว่าน้ำผึ้งลำไย โดยน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านมีปริมาณความชื้นร้อยละ 33.83 น้ำผึ้งสาบเสือมีปริมาณความชื้นร้อยละ 29.14 และน้ำผึ้งลำไยมีปริมาณความชื้นร้อยละ 21.20 การที่น้ำผึ้งขี้ไก่ย่านและน้ำผึ้งสาบเสือมีความชื้นสูง ถือเป็นลักษณะเฉพาะของน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านและน้ำผึ้งสาบเสือเอง เนื่องจากดอกขี้ไก่ย่านและดอกสาบเสือมีปริมาณความชื้นในน้ำหวานของดอกไม้ชนิดนี้สูง ซึ่งโดยทั่วไปผู้ผลิตน้ำผึ้งจะนำน้ำผึ้งไประเหยน้ำออกโดยใช้ความร้อนก่อนจะนำไปบรรจุขายแต่เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้ จำเป็นต้องศึกษาผลของสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์สลายตัวได้ง่ายด้วยความร้อน และแสง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้น้ำผึ้งที่ไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนมาศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ในขั้นตอนต่อไป

ปริมาณของแข็งในน้ำผึ้งจะแปรผกผันกับปริมาณความชื้นซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าน้ำผึ้งลำไย มีปริมาณของแข็งมากกว่าน้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน โดยมีน้ำผึ้งลำไยปริมาณของแข็งร้อยละ 78.80 น้ำผึ้งสาบเสือมีปริมาณของแข็งร้อยละ 70.86 และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านมีปริมาณของแข็งร้อยละ 66.17 ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ของน้ำผึ้งลำไยมีค่าต่ำที่สุดเนื่องจากน้ำผึ้งลำไยมีปริมาณความชื้นต่ำ และในทำนองเดียวกัน น้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านซึ่งมีความชื้นสูง จึงมีปริมาณน้ำอิสระสูงกว่าน้ำผึ้งลำไยด้วย เนื่องจากในน้ำผึ้งแต่ละชนิดมีปริมาณของสารที่มีสมบัติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นบัฟเฟอร์อยู่ไม่เท่ากัน (ลักขณา และนิธิยา, 2544) ปริมาณกรดอิสระในน้ำผึ้งจึงไม่แปรผันตรงตามค่าความเป็นกรดด่างที่วัดได้ ทั้งนี้ปริมาณกรดอิสระในน้ำผึ้งจะขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณเอนไซม์ที่สร้างกรดในน้ำผึ้งด้วย น้ำผึ้งลำไยมีค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่าน้ำผึ้งสาบเสือแต่พบว่ามีปริมาณกรดอิสระต่ำกว่าน้ำผึ้งสาบเสือ ซึ่งอาจเกิดจากน้ำผึ้งสาบเสือ มีองค์ประกอบของสารที่มีสมบัติเป็นบัฟเฟอร์มากกว่า ในน้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน แต่ทั้งนี้ น้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่นำมาศึกษา มีค่าความเป็นกรดด่าง และปริมาณกรดที่ไตเตรดได้อยู่ในช่วงเดียวกับน้ำผึ้งที่พบโดยทั่วไป

ตารางที่ 13 คุณภาพทางเคมีของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน

คุณภาพทางเคมี	ชนิดของน้ำผึ้ง		
	ลำไย	สาบเสือ	ขี้ไก่ย่าน
1. ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)	$21.20^{a}\pm0.02$	$29.14^{b}\pm0.05$	$33.83^{c}\pm0.11$
2. ปริมาณของแข็ง (ร้อยละ)	$78.80^{a}\pm0.02$	$70.86^{b}\pm0.05$	$66.17^{c}\pm0.11$
3. ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)	$0.149^{a}\pm0.05$	$0.33^{b}\pm0.02$	$0.62^{c}\pm0.04$
4. ปริมาณน้ำอิสระ (a_w)	$0.59^{a}\pm0.00$	$0.61^{ab}\pm0.01$	$0.64^{c}\pm0.00$
5. ค่าความเป็นกรดด่าง	$4.16^{a}\pm0.01$	$4.30^{b}\pm0.01$	$4.96^{c}\pm0.00$
6. ปริมาณกรดที่ไตเตรดได้ (ร้อยละ)	$14.55^{b}\pm0.00$	$19.30^{a}\pm0.05$	$15.30^{b}\pm0.05$
7. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ร้อยละ)	$72.23^{a}\pm0.23$	$70.26^{b}\pm0.42$	$69.13^{c}\pm0.10$
8. ปริมาณกลูโคส (ร้อยละ)	32.12	39.64	29.74
9. ปริมาณฟรุกโตส (ร้อยละ)	39.69	42.49	47.46
10. ปริมาณไนโตรเจน	$0.04^{a}\pm0.00$	$0.04^{a}\pm0.00$	$0.07^{b}\pm0.00$

น้ำผึ้งแท้ทั่วไปที่ไม่ได้เจือปนน้ำตาลซูโครส จะมีปริมาณน้ำตาลซูโครสอยู่น้อยมาก ค่าการวิเคราะห์น้ำตาลตามวิธีของ Lane and Eynon ก่อนการทำอินเวอร์ชั่นและหลังทำอินเวอร์ชั่นจึงมีค่าใกล้เคียงกัน และไม่จำเป็นต้องทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลหลังทำอินเวอร์ชั่น (ลักขณาและนิธิยา, 2544) ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าน้ำผึ้งลำไย น้ำสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดใกล้เคียงกัน โดยองค์ประกอบหลักของน้ำตาลในน้ำผึ้งคือน้ำตาลฟรุกโตส (Mizrahi, 1997) และจากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุกโตส โดยใช้เครื่อง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แยกของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) พบว่าน้ำผึ้งทุกชนิดมีปริมาณน้ำตาลฟรุกโตส สูงกว่าน้ำตาลกลูโคส และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านมีปริมาณน้ำตาลฟรุกโตสสูงที่สุด

น้ำผึ้งเป็นอาหารที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ จึงมีปริมาณไนโตรเจนน้อย โดยน้ำผึ้งแท้จะมีปริมาณโปรตีนไม่เกินร้อยละ 0.25 และจากการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนโดยวิธี macro Kjeldahl ได้ปริมาณไนโตรเจนของน้ำผึ้งลำไยเท่ากับร้อยละ 0.04 น้ำผึ้งสาบเสือ เท่ากับ 0.04 และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านเท่ากับร้อยละ 0.07 ซึ่งค่าคุณภาพทางเคมีของน้ำผึ้งแต่ละชนิดจะแปรผันไปตามชนิดของน้ำผึ้งที่แตกต่างกันตามดอกไม้ที่ให้น้ำหวานด้วย และนอกจากปริมาณความชื้นของน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่สูงกว่ามาตราฐานแล้ว ค่าสมบัติทางเคมีค่าอื่นๆของน้ำผึ้งที่นำมาศึกษา ก็ยังคงอยู่ในช่วงเดียวกันกับน้ำผึ้งโดยทั่วไป

4.1.2 ผลการศึกษาคุณภาพทางกายภาพ

ค่าสี L* a* b* ที่วัดได้ จากน้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งลำไยและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ตารางที่ 14) มีค่า b* เข้าใกล้สีเหลือง และมีค่าความสว่าง (L*) น้อย รวมทั้งมีค่าสี a* เข้าใกล้สีแดง แสดงว่าน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งขี้ไก่ย่านมีโทนสีไปทางสีน้ำตาลค่อนข้างเข้ม

จากการวัดค่าความหนืดของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ตารางที่ 14) พบว่าน้ำผึ้งลำไยมีความหนืดมากที่สุด รองลงมาคือน้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ตามลำดับ ทั้งนี้ค่าความหนืดแปรผันตามปริมาณของแข็งในน้ำผึ้ง ซึ่งเมื่อมีปริมาณของแข็งสูงทำให้มีการต้านทานการไหลมากขึ้น ส่งผลให้ความหนืดมีค่ามาก โดยน้ำผึ้งลำไยมีค่าความหนืดเท่ากับ 3393.00 เซนติพอยส์ น้ำผึ้งสาบเสือ มีค่าความหนืดเท่ากับ 1725.33 เซนติพอยส์ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านมีค่าความหนืดเท่ากับ 1414.67 เซนติพอยส์ โดยความหนืดของน้ำผึ้งจะขึ้นอยู่กับปริมาณความชื้น อุณหภูมิในขณะวัด และชนิดของดอกไม้ที่ให้น้ำหวานของน้ำผึ้ง (The National Honey Board, 1985)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 14 คุณภาพทางกายภาพของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน

คุณภาพทางกายภาพ	ชนิดของน้ำผึ้ง		
	ลำไย	สาบเสือ	ขี้ไก่ย่าน
1. ค่าสี			
ค่าสี L*	$28.28^{b}\pm0.26$	$30.01^{c}\pm1.08$	$26.82^{a}\pm0.43$
ค่าสี a*	$12.53^{c}\pm0.21$	$7.32^{b}\pm0.98$	$7.26^{a}\pm0.23$
ค่าสี b*	$8.19^{c}\pm0.21$	$7.90^{b}\pm0.48$	$5.31^{a}\pm0.29$
2. ความหนืด (เซนติพอยส์)	$3393.00^{a}\pm9.00$	$1725.33^{b}\pm8.96$	$1414.67^{c}\pm24.90$

หมายเหตุ: ค่าความหนืด วัดด้วยเข็มเบอร์ 4 ที่อุณหภูมิ 23 $\pm$1 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 40 รอบต่อนาทีของน้ำผึ้งลำไย 100 รอบต่อนาทีของน้ำผึ้งสาบเสือ และ 120 รอบต่อนาทีของน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน

4.1.3 ผลการศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน

จากการศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งลำไย น้ำสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน โดยการนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ด้วยวิธี total plate count (Harrigan, 1998) พบว่าในน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 14 19 และ 21 cfu ต่อกรัมตามลำดับ ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่ามีสปอร์ของจุลินทรีย์เหลือรอดอยู่ในน้ำผึ้ง (The National Honey Board, 1985) ทั้งนี้ Snowdon and Cliver (1996) ได้ศึกษาพบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus* sp. ในอุจจาระของตัวผึ้งและตัวอ่อนของผึ้ง อย่างไรก็ตามปริมาณจุลินทรีย์ที่พบก็ยังมีจำนวนน้อย จึงมีสมบัติทางจุลินทรีย์ที่น่าจะสามารถนำไปศึกษาในตอนต่อไปได้

4.1.4 ผลการศึกษา ปริมาณสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางต่างๆกัน

จากการตรวจวัดปริมาณไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางต่างๆ (ตารางที่ 15) พบว่าน้ำผึ้งลำไยมีปริมาณสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์น้อยที่สุดในทุกระดับความเจือจาง ส่วนน้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านพบว่ามีปริมาณสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์สูงที่สุดที่ระดับความเจือจางต่ำกว่าร้อยละ 35 (มีปริมาณน้ำผึ้งมากกว่าร้อยละ 35) และเมื่อน้ำผึ้งสาบเสือ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ระดับความเจือจางต่ำกว่าร้อยละ 35 (มีปริมาณน้ำผึ้งมากกว่าร้อยละ 35) และเมื่อน้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านมีความเจือจางน้อยลง (ปริมาณน้ำผึ้งสูงขึ้น) พบว่าปริมาณสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ไม่ได้เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้น ทั้งนี้ Molan (1992) ได้รายงานว่าปริมาณสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ จะไม่แปรผันกับความเจือจางของน้ำผึ้ง เนื่องจากเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสในน้ำผึ้งซึ่งที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาในการสร้างสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ จะทำงานได้สูงสุดเมื่ออยู่ในระดับความเจือจางที่เหมาะสม และหากความเจือจางน้อยเกินไป (เข้มข้นมาก) ค่าความเป็นกรดในน้ำผึ้งจะทำให้เอนไซม์ทำงานได้น้อยลง ดังนั้นเมื่อลดความเจือจางของน้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน จึงพบว่าปริมาณไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์คงที่

ตารางที่ 15 ปริมาณสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในสารละลายน้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางต่างกัน

ชนิดน้ำผึ้ง	ระดับความเจือจาง	ปริมาณสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ลำไย	30	0.0±0
	35	2.5±0
	40	2.5±0
สาบเสือ	30	10±0
	35	25±0
	40	25±0
	45	25±0
	50	25±0
	55	25±0
ขี้ไก่ย่าน	30	15±0
	35	22±0
	40	25±0
	45	25±0
	50	25±0
	55	25±0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2 ผลการศึกษาระดับความเจือจางของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย โดยวิธี disc diffusion

การทดสอบเพื่อหาระดับเจือจางของน้ำผึ้งที่เหมาะสมโดยใช้วิธี disc diffusion จะทำให้ทราบถึงระดับความเจือจางที่เหมาะสมของน้ำผึ้งในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า เชื้อจุลินทรีย์ถูกยับยั้งได้โดยการใช้น้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางเริ่มต้นร้อยละ 30 (โดยน้ำหนัก) การศึกษาในขั้นตอนต่อไปจึงได้เตรียมสารละลายน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ตั้งแต่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 โดยแบ่งเป็น 5 ช่วง ดังนี้

4.2.1 ศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ในช่วงความเจือจางที่ 1 สารละลายน้ำผึ้งเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

4.2.2 ศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ในช่วงความเจือจางที่ 2 สารละลายน้ำผึ้งเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55

4.2.3 ศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ในช่วงความเจือจางที่ 3 สารละลายน้ำผึ้งเจือจางร้อยละ 60 65 และ 70

4.2.4 ศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ในช่วงความเจือจางที่ 4 สารละลายน้ำผึ้งเจือจางร้อยละ 75 80 และ 85

4.2.5 ศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ในช่วงความเจือจางที่ 5 สารละลายน้ำผึ้งเจือจางร้อยละ 90 95 และ 100

เพื่อศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ 7 ชนิดคือ *Serratia marcescens* *Enterobacter aerogenes* *Micrococus luteus* *Bacillus cereus* *Pseudomonas fluorescens* *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida utilis*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2.1 ผลการศึกษาระดับความเจือจางของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ที่ช่วงความเจือจางที่ 1 คือ ร้อยละ 30 35 และ 40

จากการทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40 พบว่า เมื่อวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใสของบริเวณยับยั้งที่เกิดขึ้นรอบแผ่นกระดาษซับวงกลม พบว่าน้ำผึ้งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ 2 ชนิด คือ *Serratia marcescens* และ *Enterobacter aerogenes* ดังแสดงในตารางที่ 16 และภาพที่ 4-7 โดยพบว่า เชื้อ *E. aerogenes* ที่มีจำนวนเท่ากับ log 6.98 cfu ต่อมิลลิลิตร และเชื้อ *S. marcescens* ที่มีจำนวนเท่ากับ log 7.08 cfu ต่อมิลลิลิตร ถูกยับยั้งได้ในน้ำผึ้งลำไยที่มีความเจือจาง ร้อยละ 35 และ 40 น้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40 และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ40 โดยน้ำผึ้งเทียมไม่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดใดได้เลย

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Factorial in CRD แบบ 3 ปัจจัยแล้วพบว่า เชื้อ *S. marcescens* ไวต่อการยับยั้งด้วยน้ำผึ้งมากกว่าเชื้อ *E. aerogenes* โดยมีบริเวณยับยั้งสูงสุด อยู่ที่การยับยั้งของน้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 35 และ 40 ได้ค่าเฉลี่ยของบริเวณใสเท่ากับ 11.76 และ 11.47 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเมื่อดูจากปัจจัยหลักจากการวิเคราะห์สถิติแล้ว เชื้อ *S. marcescens* ไวต่อการยับยั้งด้วยสารละลายน้ำผึ้งมากกว่าเชื้อ *E. aerogenes* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยน้ำผึ้งสาบเสือมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งจุลินทรีย์ รองลงมาคือน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านและน้ำผึ้งลำไย ซึ่งน้ำผึ้งทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และระดับความเจือจางที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดคือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 35 และ 40 สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีโดยมีความแตกต่างจากน้ำผึ้งที่ความเจือจางร้อยละ 30 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ทั้งนี้น้ำผึ้งลำไยซึ่งยับยั้งจุลินทรีย์ได้น้อยที่สุด อาจเนื่องจาก มีการสร้างสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้งลำไยน้อยที่สุด (ตารางที่ 15) นอกจากนี้ เมื่อดูจากความข้นหนืดของน้ำผึ้งลำไยแล้ว (ตารางที่ 14) จะเห็นได้ว่าน้ำผึ้งลำไยมีความหนืดสูงที่สุด ซึ่งความหนืดมีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านลงในเนื้อวุ้นของอาหาร และความสามารถในการแพร่ผ่านของสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ มีผลต่อสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี agar diffusion ด้วย (มาลิน, 2540) ส่วนน้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน มีปริมาณไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์สูง ที่ระดับความเจือจาง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ร้อยละ 35 และ 40 ซึ่งสอดคล้องกับผลการยับยั้งที่ระดับความเจือจางร้อยละ 35 และ40 ที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ *S. marcescens* และ *E. aerogenes* ได้ดี ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าจุลินทรีย์ *S. marcescens* และ *E.aerogenes* อาจมีความไวต่อการยับยั้งด้วยสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้ง และจากที่ได้มีผู้ศึกษา การยับยั้งจุลินทรีย์ *Serratia* sp. ด้วยน้ำผึ้ง Manuka ของประเทศนิวซีแลนด์พบว่า ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ คือช่วงความเข้มข้นร้อยละ 12.50 -25.00 โดยปริมาตร (Willix *et al.*, 1991) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับน้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อ *S. marcescens* ส่วนเชื้อ *E. aerogenes* ยังไม่พบว่ามีการศึกษาสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยน้ำผึ้ง

จากภาพของจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งด้วยน้ำผึ้ง (ภาพที่ 4-7) พบว่า ขอบของบริเวณใสที่แสดงการยับยั้งนั้นเห็นได้ไม่ชัด เนื่องจากยังมีเชื้อจุลินทรีย์เจริญอยู่ประปราย มาลิน จุลศิริ (2540) ได้กล่าวถึงการเจริญของเชื้อในลักษณะนี้ไว้ว่า เกิดได้จาก 2 ปัจจัยคือ กลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์ไม่สมบูรณ์ จึงทำให้เชื้อยังสามารถเจริญได้ที่บริเวณขอบ และเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์เองสามารถปรับตัวต้านทานฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์ได้ โดยจุลินทรีย์ อีก 5 ชนิดที่ไม่เกิดการยับยั้งด้วยน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 30 35 และ 40 คือ *B. cereus* *M. luteus* *P. fluorescens* *S. cerevisiae* และ *C. utilis* นั้น อาจมีสาเหตุมาจาก จุลินทรีย์ *B. cereus* สามารถสร้างเอนไซม์คะตะเลสได้ (สุมาลี, 2541; Hensyl, 1984) ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้ สามารถตัดพันธะของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ให้สลายตัวเป็น น้ำและออกซิเจน (McIntosh, 2004) และยังเป็นจุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์และทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ดี (Buemer, 1999) ทั้งนี้ Taormina *et al.* (2001) ได้เคยศึกษาการใช้น้ำผึ้งในการยับยั้งจุลินทรีย์ *B. cereus* และไม่พบการยับยั้งเช่นเดียวกัน โดยเชื่อว่า จุลินทรีย์ *B. cereus* เป็นจุลินทรีย์ที่มีความคงทนต่อสารต้านจุลินทรีย์ในน้ำผึ้งได้ดี และยังได้เคยพบว่าจุลินทรีย์ในสกุล *Bacillus* sp. สามารถอยู่ในอุจจาระของผึ้งได้ และตัวอ่อนของผึ้ง เชื้อจุลินทรีย์ *M. luteus* เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์คะตะเลสได้เช่นเดียวกับจุลินทรีย์ *B. cereus* ทำให้เชื้อ *M. luteus* มีความต้านทานต่อการยับยั้งด้วยน้ำผึ้งได้ Nzeaka and Hamdi (2000) พบว่าน้ำผึ้ง Black Forest ของประเทศเยอรมัน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas* sp. ได้ โดยสร้างบริเวณยับยั้งมากกว่า 10 มิลลิเมตร ที่ระดับความเจือจางต่ำกว่าร้อยละ 50 (มีปริมาณน้ำผึ้งสูงกว่าร้อยละ 50) จึงมีความเป็นไปได้ว่าการศึกษาสมบัติของน้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40 ในการยับยั้งเชื้อ *P. fluorescens* ยังมีความเจือจางสูงเกินไปในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดนี้ และควรลดระดับความเจือจางของน้ำผึ้งเพื่อทำการศึกษาในขั้นต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สำหรับเชื้อ *S. cerevisiae* และ *C. utilis* ซึ่งเป็นเชื้อยีสต์ ที่สามารถเจริญได้ทั้งในอาหารที่มีช่วงค่าความเป็นกรดด่างกว้าง และมีปริมาณน้ำอิสระต่ำได้ จึงอาจทำให้มีความต้านทานต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ดี โดย Molan (1992) ให้ข้อสังเกตว่า มีน้ำผึ้งเพียงบางชนิดเท่านั้นที่มีสมบัติต้านการเจริญของเชื้อยีสต์และราได้ ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมา ผู้วิจัยส่วนใหญ่ไม่พบสมบัติการยับยั้งยีสต์และราในน้ำผึ้ง (Molan, 1997; Nzeako and Hamdi, 2000; Ceyhan and Uguy, 2001; Mundo *et al*., 2004)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

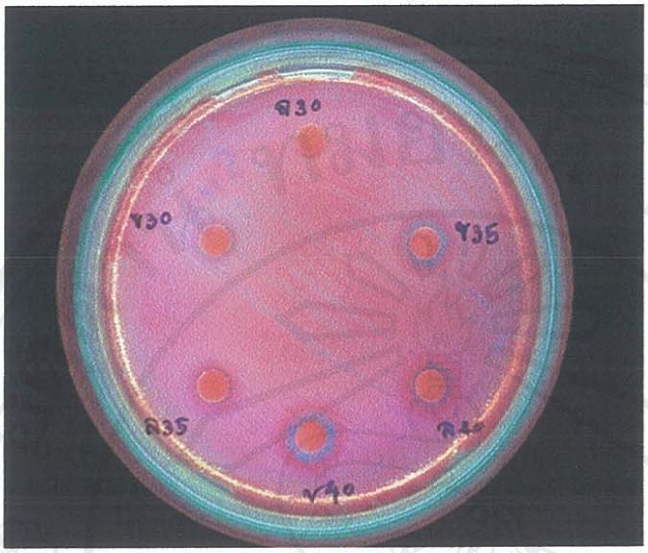
ตารางที่ 16 ผลการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งรวมกับเส้นผ่าศูนย์กลางของกระดาษซับวงกลม จากการทดสอบความไวต่อการถูกยับยั้งด้วย น้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน

ชนิดของน้ำผึ้งและความเข้มข้น		เส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งรวมกับเส้นผ่าศูนย์กลางของกระดาษซับวงกลม (มิลลิเมตร)						
		E. aerogenes	*S. marcescens*	*M. luteus*	*B. cereus*	*P. fluorescens*	*S. cerevisiae*	*C. utilis*
ลำไย	30	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$
	35	$6.25^{g}\pm0.61$	$7.83^{def}\pm1.36$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$
	40	$6.5^{fg}+0.94$	$8.83^{ed}\pm1.67$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$
สาบเสือ	30	$9.05^{cde}\pm1.58$	$10.86^{ab}\pm2.09$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$
	35	$9.39^{bcd}\pm1.03$	$11.76^{a}\pm2.06$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$
	40	$10.28^{abc}\pm1.75$	$11.47^{a}\pm1.44$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$
ขี้ไก่ย่าน	30	$6.58^{fg}\pm1.20$	$8.19^{de}\pm1.75$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$
	35	$7.55^{efg}\pm1.82$	$10.72^{ab}\pm2.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$
	40	$8.47^{de}\pm2.06$	$11.44^{a}\pm1.46$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$
เทียม	30	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$
	35	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$
	40	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$	$6.00^{g}\pm0.00$

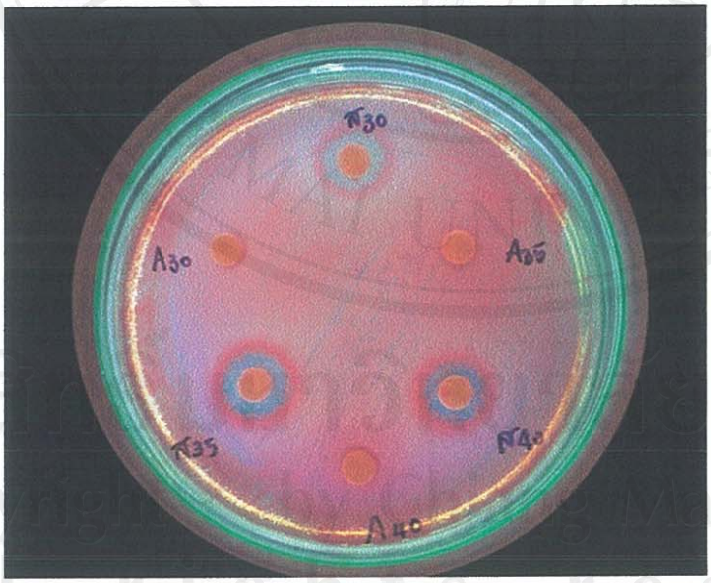
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย $\pm$ จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

- ตัวเลขที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ค่าบริเวณยับยั้งที่แสดงด้วยเลข 6.00 หมายถึงไม่เกิดการยับยั้ง เนื่องจากเป็นเส้นผ่านศูนย์กลางของกระดาษซับวงกลม

เชื้อจุลินทรีย์ *Serratia marcescens* และ *Enterobacter aerogenes* ที่ถูกยับยั้งด้วยน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ดังแสดงในภาพที่ 4 - 7

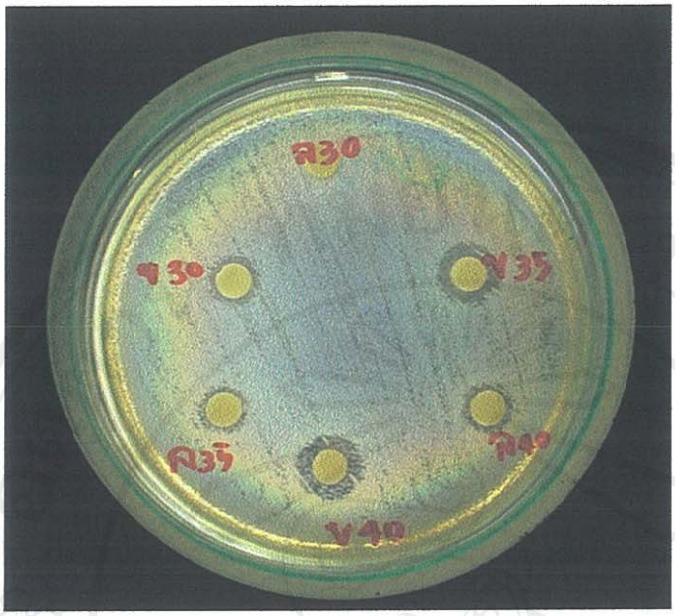


ภาพที่ 4 บริเวณยับยั้งของเชื้อ *S. marcescens* ทดสอบโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

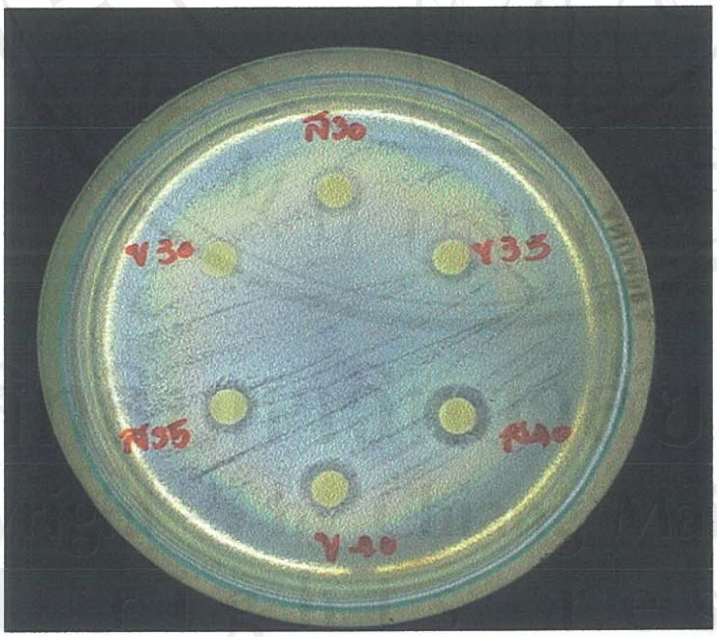


ภาพที่ 5 บริเวณยับยั้งของเชื้อ *S. marcescens* ทดสอบโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งเทียม (A) ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



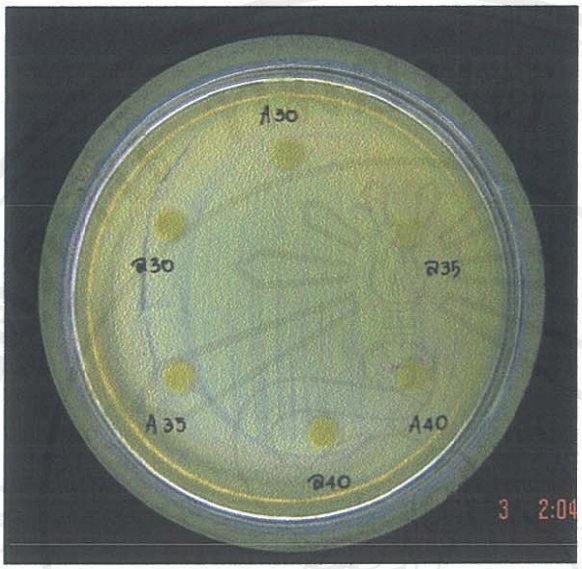
ภาพที่ 6 บริเวณยับยั้งของเชื้อ *E. aerogenes* ทดสอบโดยสารละลายน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40



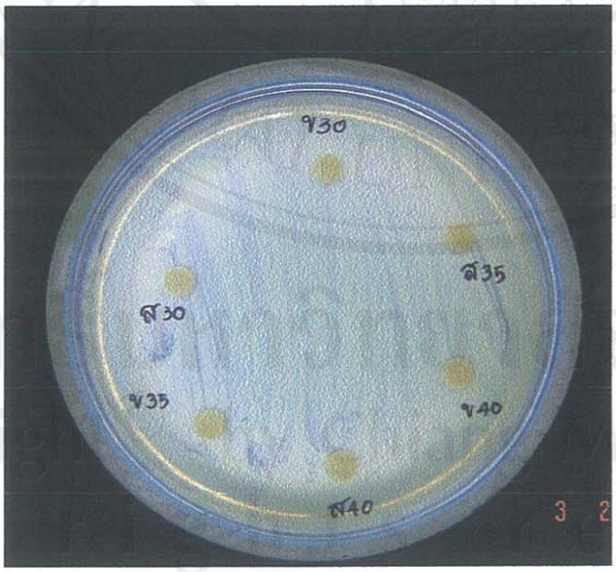
ภาพที่ 7 บริเวณยับยั้งของเชื้อ *E. aerogenes* ทดสอบโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ที่ ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพเชื้อจุลินทรีย์ *Micrococus luteus, Bacillus cereus, Pseudomonas fluorescens Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida utilis* ที่ไม่ถูกยับยั้งด้วยน้ำผึ้ง ทั้ง 3 ชนิดที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40 โดยน้ำหนัก ดังแสดงในภาพที่ 8 -17

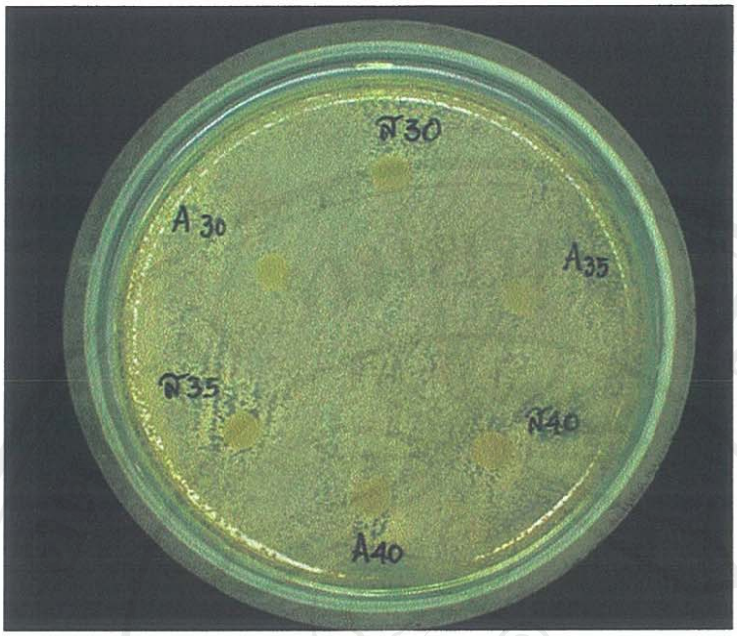


ภาพที่ 8 จุลินทรีย์ *M. luteus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และ น้ำผึ้งเทียม (A) ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

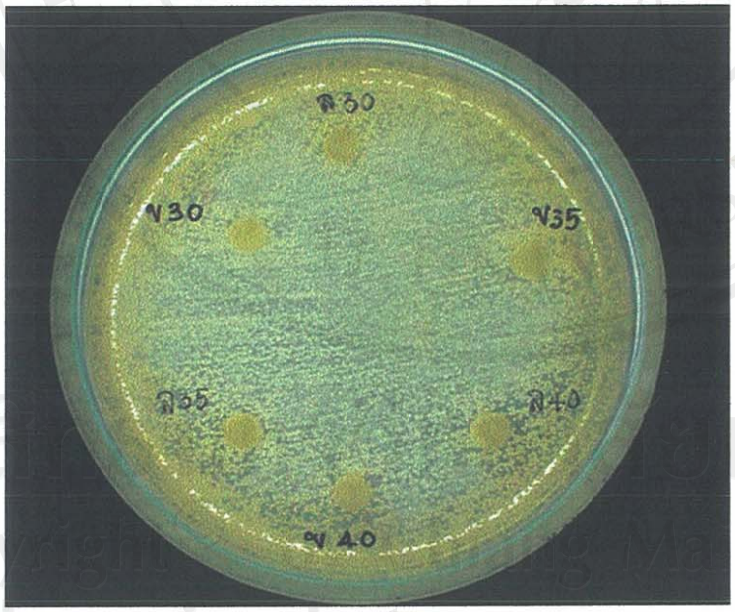


ภาพที่ 9 จุลินทรีย์ *M. luteus* ไม่ถูกยับยั้งโดย น้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

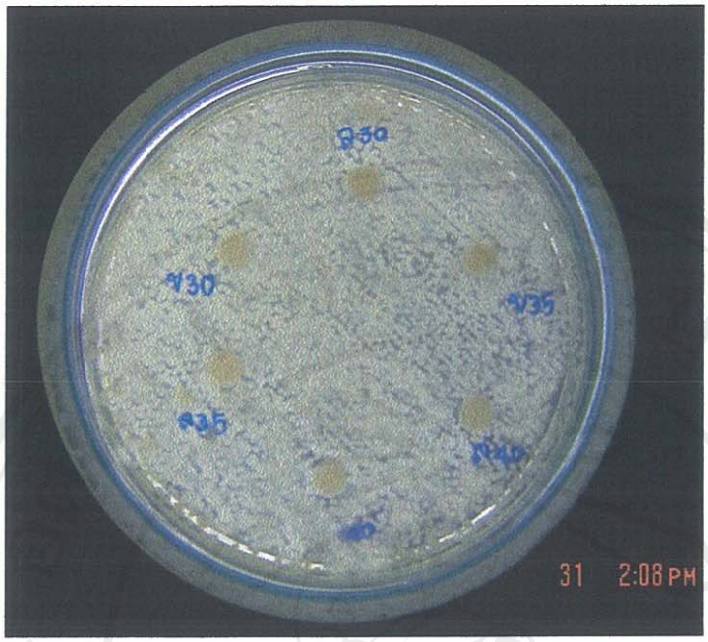


ภาพที่ 10 จุลินทรีย์ *C. utilis* ไม่ถูกยับยั้งโดย น้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และ น้ำผึ้งเทียม (A) ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

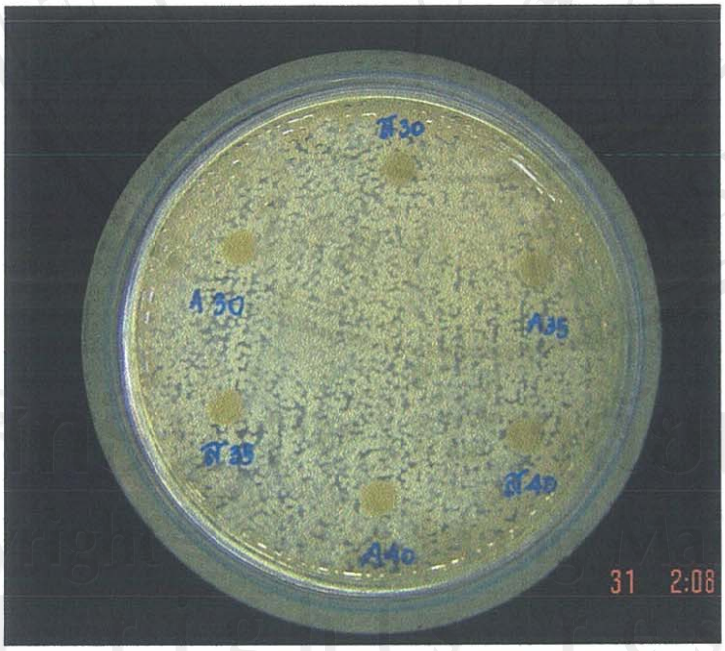


ภาพที่ 11 จุลินทรีย์ *C. utilis* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และ น้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

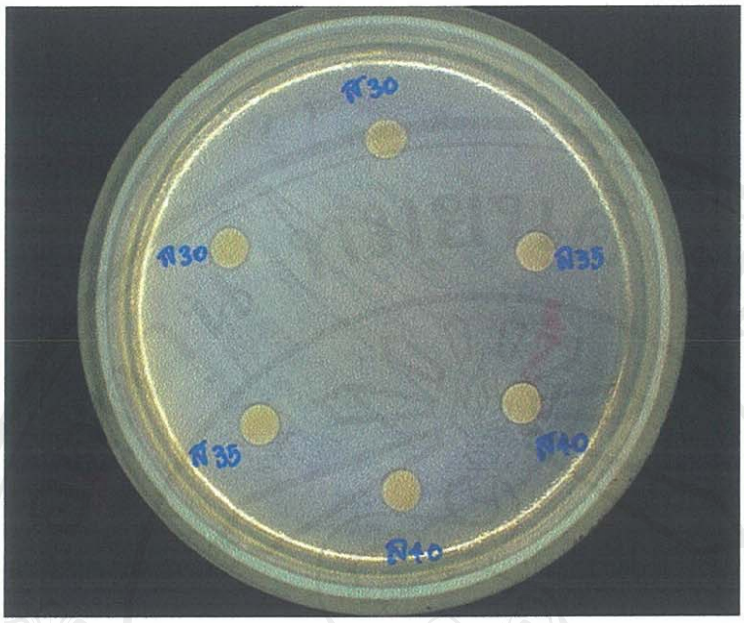


ภาพที่ 12 จุลินทรีย์ *S. cerevisiae* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ที่ระดับความจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

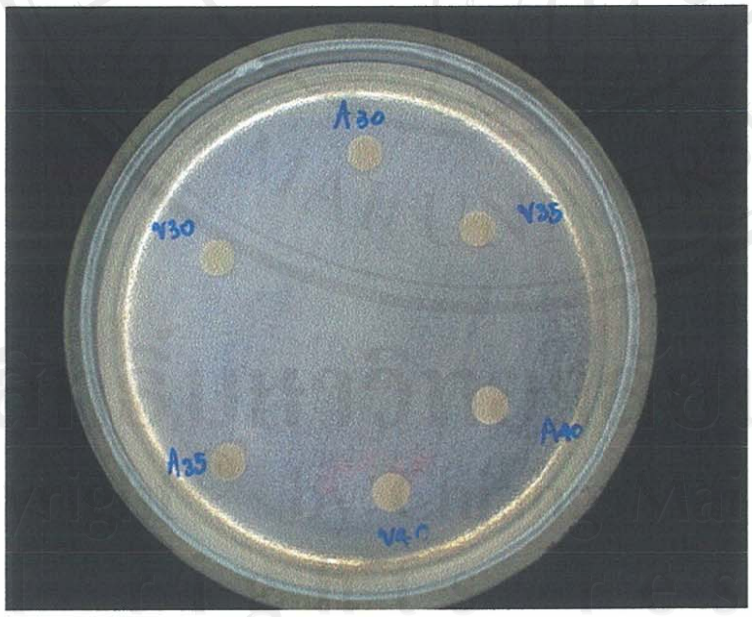


ภาพที่ 13 จุลินทรีย์ *S. cerevisiae* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และ น้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

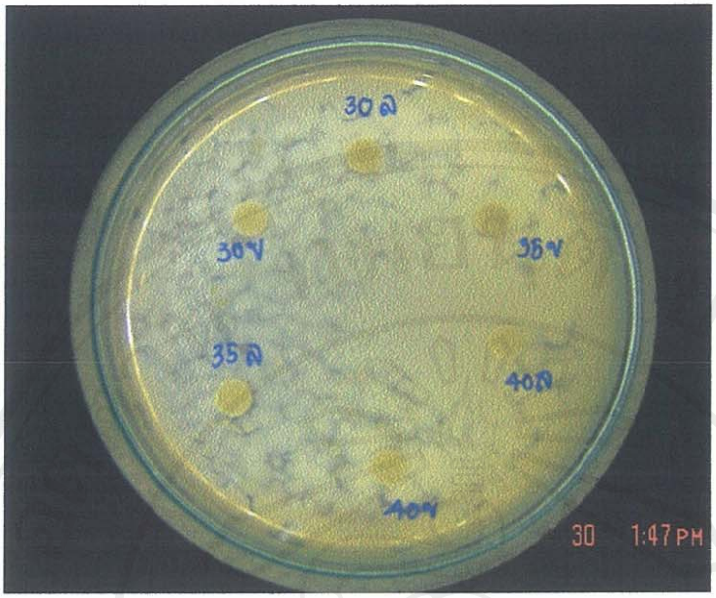


ภาพที่ 14 จุลินทรีย์ *P. fluorescens* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และ น้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

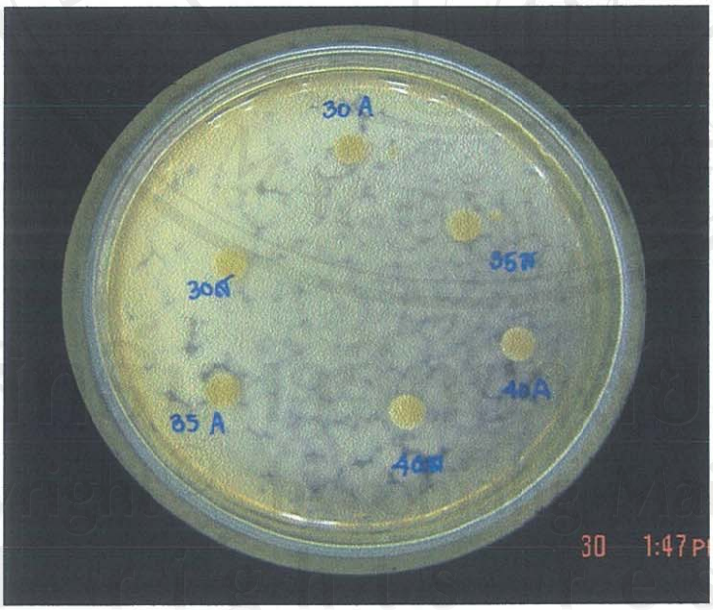


ภาพที่ 15 จุลินทรีย์ *P. fluorescens* ไม่ถูกยับยั้งโดย น้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) และน้ำผึ้งเทียม (A) ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 16 จุลินทรีย์ *B. cereus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40



ภาพที่ 17 จุลินทรีย์ *B. cereus* ไม่ถูกยับยั้งโดย น้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งเทียม (A) ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2.2 ผลการศึกษาความเจือจางของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ช่วงความเจือจางที่ 2 คือร้อยละ 45 50 และ 55

การศึกษาผลของความเจือจางของน้ำผึ้งในช่วงที่ 2 ในการยับยั้งจุลินทรีย์ *Micrococus luteus Bacillus cereus Pseudomonas fluorescens Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida utilis* จากการศึกษาในตอนที่ 3.1 พบว่าน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ที่ช่วงความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40 สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ ได้ 2 ชนิด คือ *S. marcescens* และ *E. aerogenes* และเมื่อลดความเจือจางของน้ำผึ้ง เป็นช่วงที่ 2 (เพิ่มความเข้มข้นของน้ำผึ้งมากขึ้น) คือ ที่ระดับความเจือจาง 45 50 และ 55 พบว่า น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *P. fluorescens* ได้ (ตารางที่ 17 และภาพที่ 18-19) โดยไม่ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อีก 4 ชนิด คือ *B. cereus M. luteus C. utilis* และ *S. cerevisiae* และพบว่า น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งเทียม ไม่มีการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้ง 5 ชนิดที่ศึกษา

เมื่อลดความเจือเจือจาง (น้ำผึ้งมีความเข้มข้นสูงขึ้น) ของน้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน พบว่ามีผลทำให้จุลินทรีย์ *P. fluorescens* ถูกยับยั้งได้โดยมีการยับยั้งสูงที่สุดด้วยน้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 50 และ 55 และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ระดับความเจือจางร้อยละ 55 โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทั้งนี้จากการศึกษาของ Willix *et al.* (1991) พบว่าเชื้อ *P. fluorescens* ถูกยับยั้งด้วยน้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางที่สุด คือ ร้อยละ 12.50-25.00 และยังมีการศึกษาถึงผลของชนิดน้ำผึ้งที่แตกต่างกันในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *P. aeruginosa* (Nzeaka and Hamdi, 2000) พบว่า น้ำผึ้ง Turkish จากประเทศตุรกีไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ แต่จากการทดลองในสภาวะเดียวกันในน้ำผึ้ง Black Forest จากประเทศเยอรมันพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ โดยสร้างบริเวณยับยั้งมากกว่า 10 มิลลิเมตร ที่ระดับความเจือจางต่ำกว่าร้อยละ 50 ซึ่งมีผลใกล้เคียงกับน้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ได้ศึกษาการยับยั้งเชื้อ *P. fluorescens* ในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันไป ตามชนิดของดอกไม้ที่ให้น้ำหวานแก่ผึ้ง และตามภูมิประเทศของแหล่งที่ผลิตน้ำผึ้ง รวมทั้งขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ที่ศึกษาด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

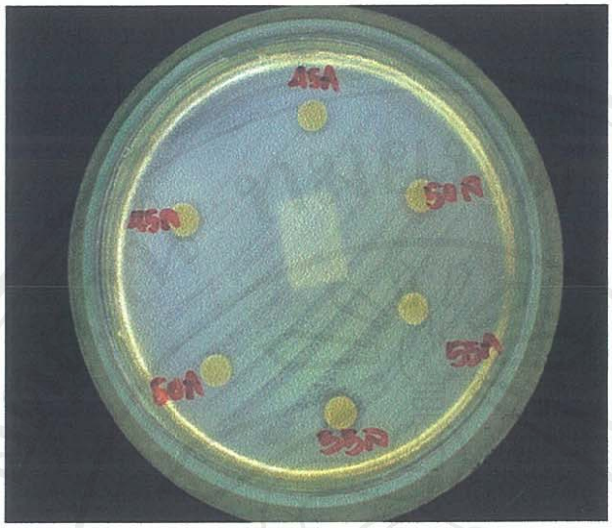
ตารางที่ 17 เส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ผ่านจุดศูนย์กลางของกระดาษซับวงกลมจากการทดสอบความไวต่อการ ถูกยับยั้งด้วยน้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน และ น้ำผึ้งลำไย ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55

ชนิดของน้ำผึ้งและระดับความเจือจาง (ร้อยละ)		บริเวณยับยั้งผ่านจุดศูนย์กลางของกระดาษซับวงกลม (มิลลิเมตร)				
		M. luteus	*B. cereus*	*P. fluorescens*	*S. cerevisiae*	*C. utilis*
ลำไย	45	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$
	50	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$
	55	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$
สาบเสือ	45	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$7.72^{d}\pm1.11$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$
	50	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$11.64^{ab}\pm2.10$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$
	55	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$12.41^{ab}\pm1.22$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$
ขี้ไก่ย่าน	45	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$9.44^{c}\pm1.95$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$
	50	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$10.86^{b}\pm1.90$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$
	55	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$11.36^{ab}\pm1.47$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$
น้ำผึ้งเทียม	45	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$
	50	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$
	55	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$

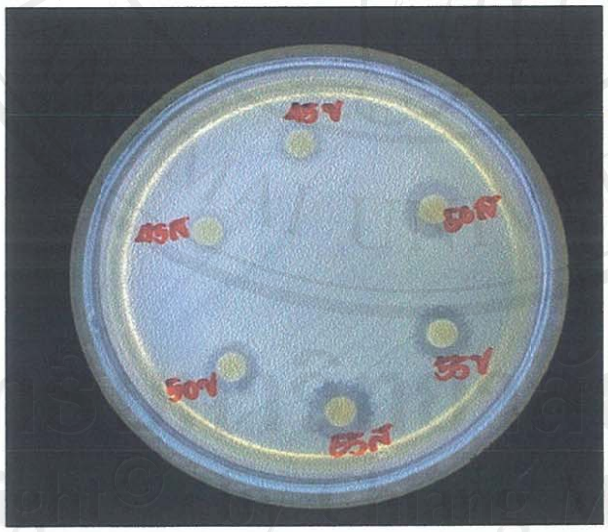
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย $\pm$ จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

- ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ค่าบริเวณยับยั้งที่แสดงด้วยเลข 6.00 แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เนื่องจากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของกระดาษซับวงกลมที่ใช้มีขนาด 6.00 มิลลิเมตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 18 จุลินทรีย์ *P. fluorescens* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55



ภาพที่ 19 บริเวณยับยั้งของจุลินทรีย์ *P. fluorescens* ทดสอบโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และ น้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2.3 ผลการศึกษาความเจือจางของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ช่วงความเจือจางที่ 3-5

เมื่อทดลองลดระดับความเจือจางของน้ำผึ้งที่ใช้ในการศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์อีก 4 ชนิด ที่ไม่มีการยับยั้งจากการศึกษาในตอนที่ 3.1 และ 3.2 ได้แก่ *B. cereus* *M. luteus* *C. utilis* และ *S. cerevisiae* พบว่า ให้ผลการศึกษาในลักษณะเดียวกัน คือเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิด ไม่ถูกยับยั้งด้วยน้ำผึ้ง แม้ว่าจะลดระดับความเจือจางของน้ำผึ้งไปจนถึงระดับที่ไม่มีการเจือจาง (น้ำผึ้งร้อยละ 100) (ภาพที่ 20-51) จึงนำผลการศึกษา มาอภิปรายร่วมกัน

การที่เชื้อ 4 ชนิดได้แก่ *B. cereus* *M. luteus, C. utilis* และ *S. cerevisiae* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้ง มีความเป็นไปได้ว่าเชื้อเหล่านี้สามารถทนต่อสารต้านจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำผึ้ง ดังที่ได้กล่าวไว้ในการอภิปรายผลตอนที่ 4.2.1 จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์คะตะเลสได้คือ *B. cereus* และ *M. luteus* ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวสามารถเร่งปฏิกิริยาให้เกิดการสลายตัวของสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ได้ โดยสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เป็นสารหลักในการต้านจุลินทรีย์ที่พบในน้ำผึ้ง (Molan, 1992) จึงอาจเป็นเหตุผลที่ทำให้จุลินทรีย์ *B. cereus* และ *M. luteus* มีความต้านทานต่อการยับยั้งด้วยน้ำผึ้ง ในขณะที่จุลินทรีย์อีก 3 ชนิด คือ *S. marcescens* *E. aerogenes* และ *P. fluorescens* ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส จึงถูกยับยั้งได้ด้วยน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ส่วนเชื้อยีสต์อีก 2 ชนิดคือ *S. cerevisiae* และ *C. utilis* ที่ไม่พบการยับยั้งด้วยน้ำผึ้ง อาจเนื่องมาจากยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่าแบคทีเรีย (Hensyl, 1994) จึงทำให้สามารถต้านทานต่อการยับยั้งด้วยน้ำผึ้งได้ ทั้งนี้มีเพียงน้ำผึ้งบางชนิดเท่านั้นที่มีสมบัติต้านการเจริญของเชื้อยีสต์และราได้ (Bogdanov, 1997)

จากผลการศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยน้ำผึ้ง มีข้อสังเกตว่าเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดที่ศึกษาที่ถูกยับยั้งด้วยน้ำผึ้ง 3 ชนิดที่ศึกษา เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าความแตกต่างของโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ อาจมีผลต่อความไวในการถูกยับยั้งด้วยน้ำผึ้งได้แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามจะได้ข้อสรุปดังกล่าวจำเป็นต้องได้รับการศึกษาเพิ่มเติม

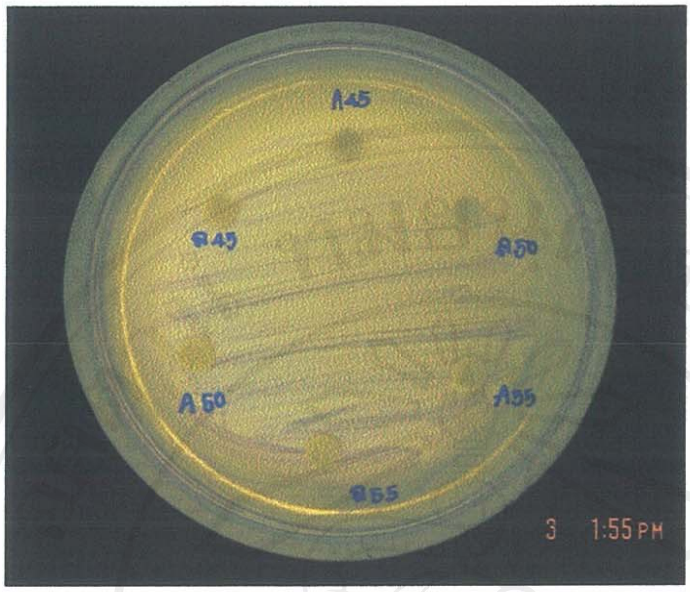
ความสามารถในการซึมผ่านของสารต้านจุลินทรีย์ลงในเนื้อวุ้นอาหาร ก็มีผลทำให้การยับยั้งจุลินทรีย์เกิดขึ้นได้น้อยลง (มาลิน, 2541) ทั้งนี้มีข้อสังเกตว่าเมื่อลดความเจือจางของน้ำผึ้งลง น้ำผึ้งจะมีความเข้มข้นสูงขึ้น ทำให้น้ำผึ้งมีความหนืดเพิ่มมากขึ้น ซึ่งความหนืดอาจมีผลต่อการซึมผ่านลงในวุ้นอาหาร จึงอาจเป็นเหตุผลที่ทำให้ การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี diffusion method ลดลง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

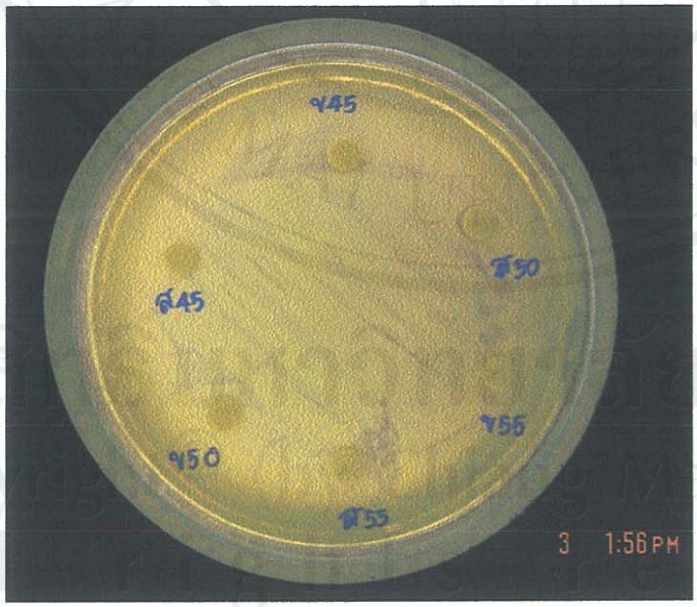
จากผลการศึกษาพบว่าเมื่อลดระดับความเจือจางของน้ำผึ้งเป็นร้อยละ 45 50 และ 55 แล้วให้ผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ *P. fluorescens* ได้ดังภาพที่ 18-19 แต่ทั้งนี้ ที่ระดับความเจือจางดังกล่าวไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ จุลินทรีย์ อีก 4 ชนิด ได้แก่ *B. cereus M. luteus C. utilis* และ *S. cerevisiae* ที่ทดสอบด้วยวิธีเดียวกัน ซึ่งแสดงภาพในแต่ละระดับความเจือจางดังนี้

ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55	ดังแสดงในภาพที่ 20-27
ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 60 65 และ 70	ดังแสดงในภาพที่ 28-35
ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 75 80 และ 85	ดังแสดงในภาพที่ 36-43
ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 90 95 และ 100	ดังแสดงในภาพที่ 44-51

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

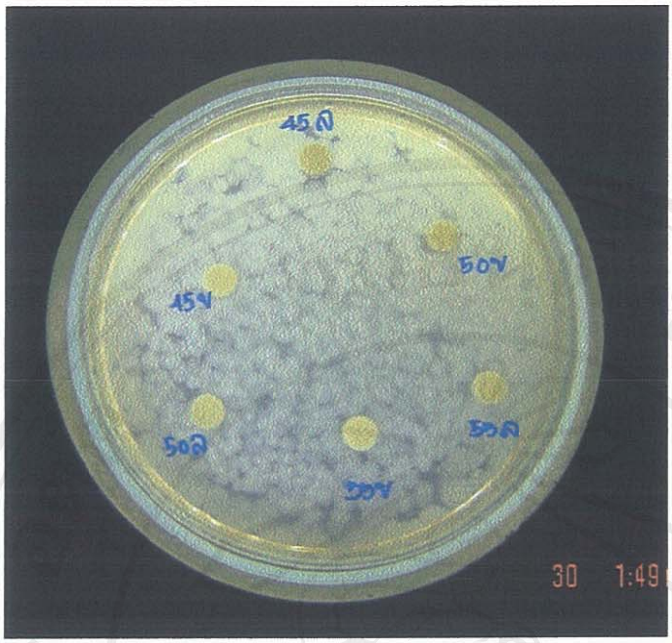


ภาพที่ 20 จุลินทรีย์ *M. luteus* ไม่ถูกยับยั้งโดยผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจาง ร้อยละ 45 50 และ 55

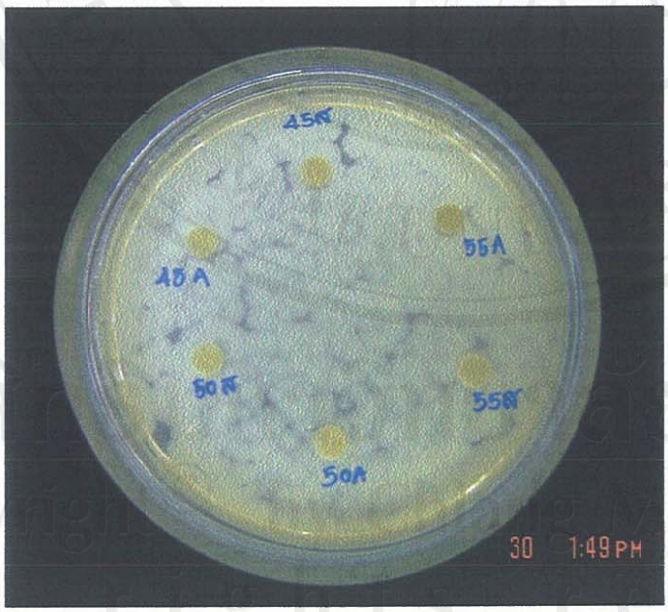


ภาพที่ 21 จุลินทรีย์ *M. luteus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

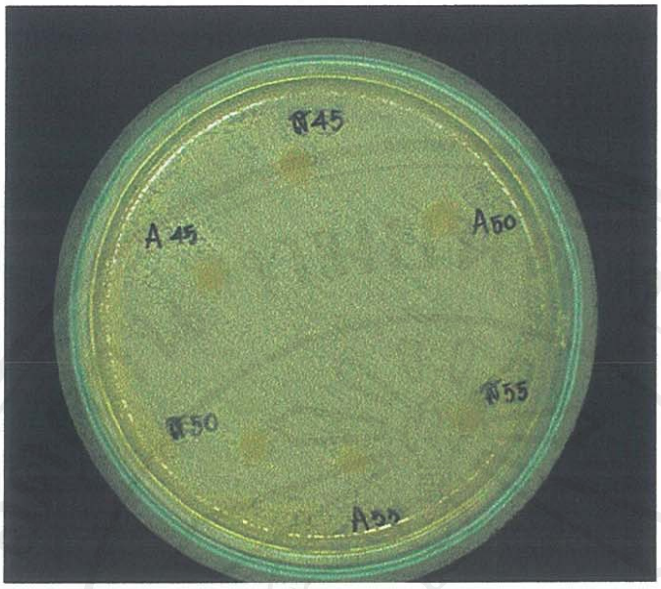


ภาพที่ 22 จุลินทรีย์ *B. cereus* ไม่ถูกยับยั้งโดยสารละลายน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้ง ขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55

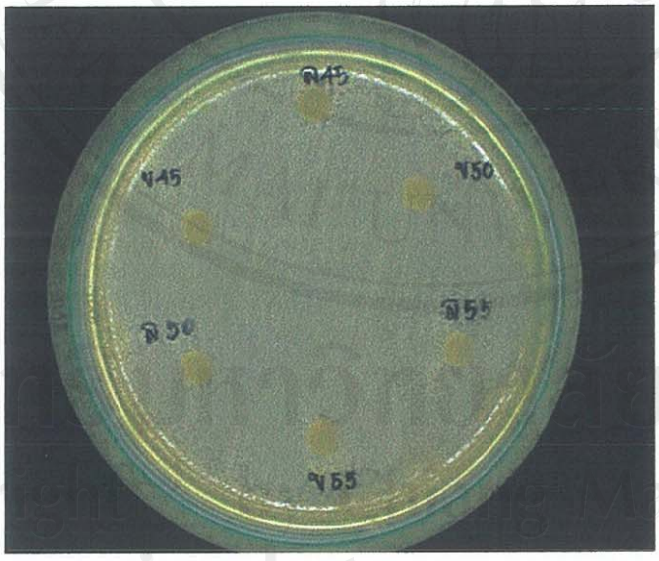


ภาพที่ 23 จุลินทรีย์ *B. cereus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และ น้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

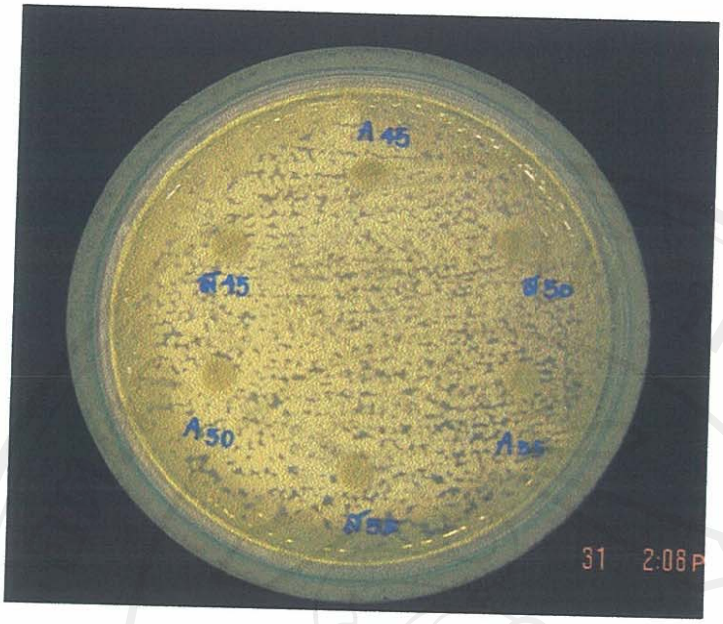


ภาพที่ 24 จุลินทรีย์ *C. utilis* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และ น้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55



ภาพที่ 25 จุลินทรีย์ *C. utilis* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55

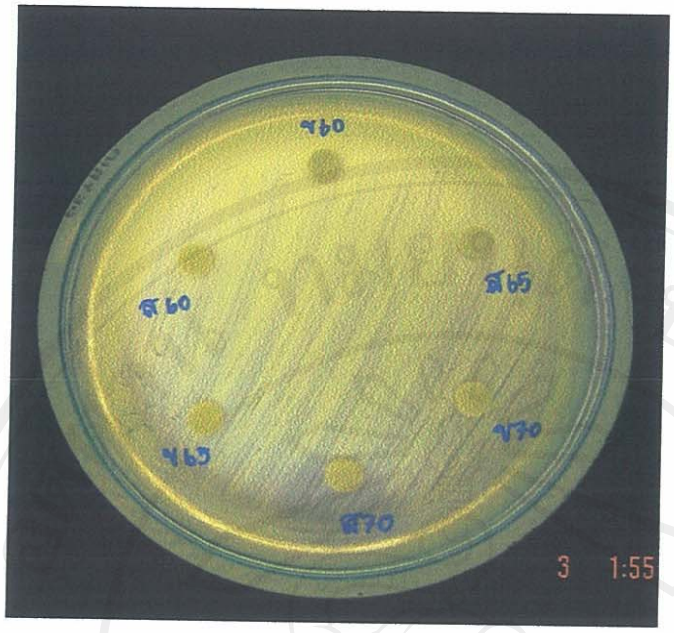
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



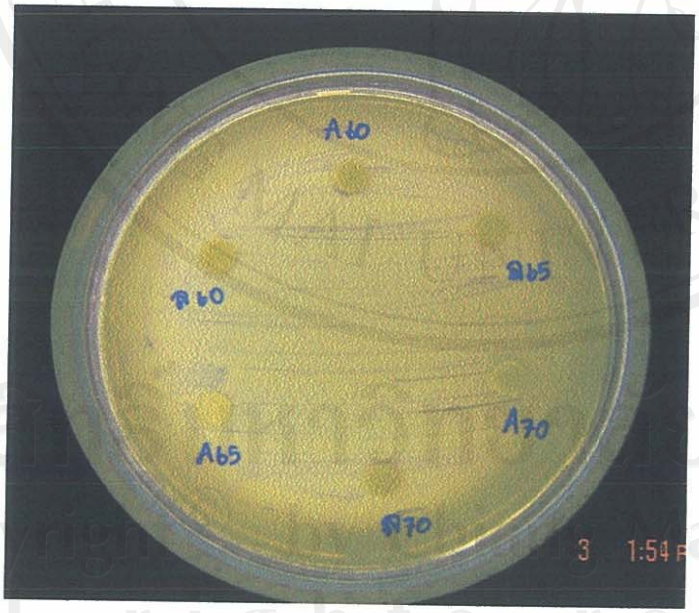
ภาพที่ 26 จุลินทรีย์ *S. cerevisiae* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และ น้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55

ภาพที่ 27 จุลินทรีย์ *S. cerevisiae* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และ น้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

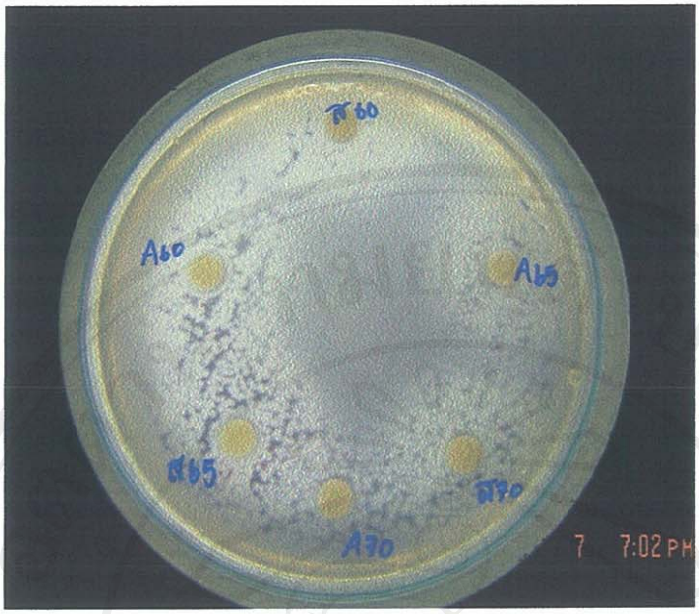


ภาพที่ 28 จุลินทรีย์ *M. luteus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 60 65 และ 70

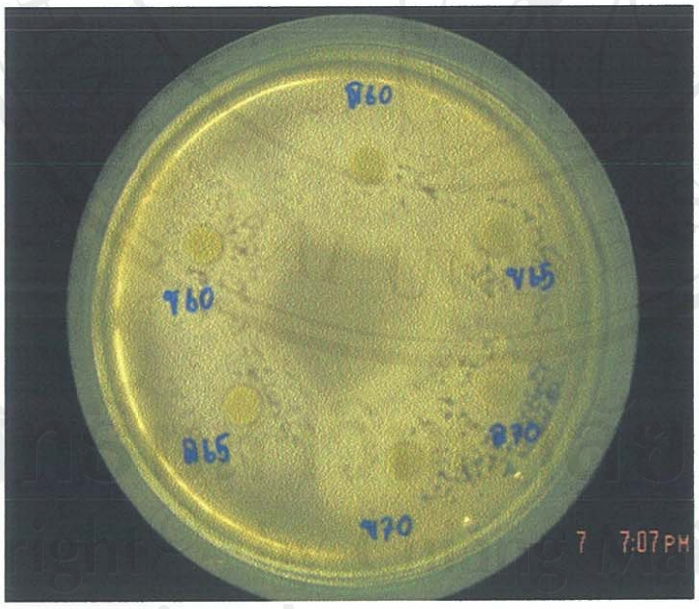


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 29 จุลินทรีย์ *M. luteus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 60 65 และ 70

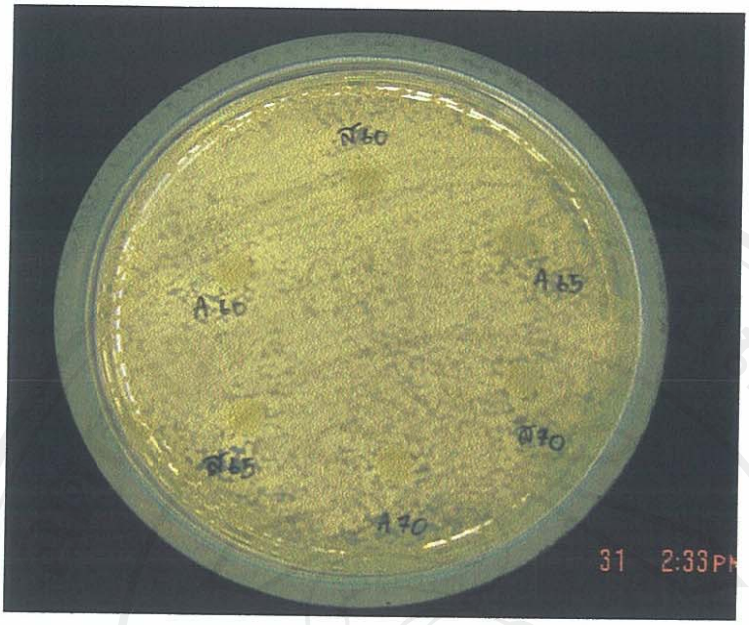


ภาพที่ 30 จุลินทรีย์ *B. cereus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 60 65 และ 70



ภาพที่ 31 จุลินทรีย์ *B. cereus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 60 65 และ 70

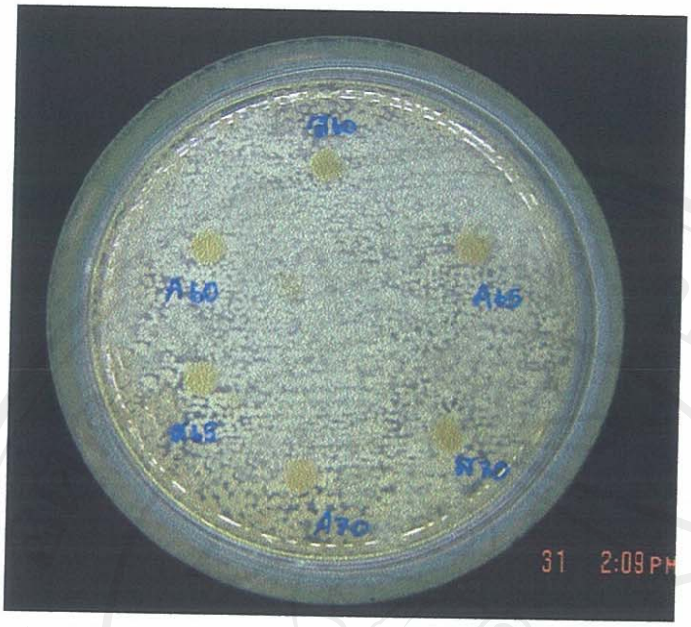
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



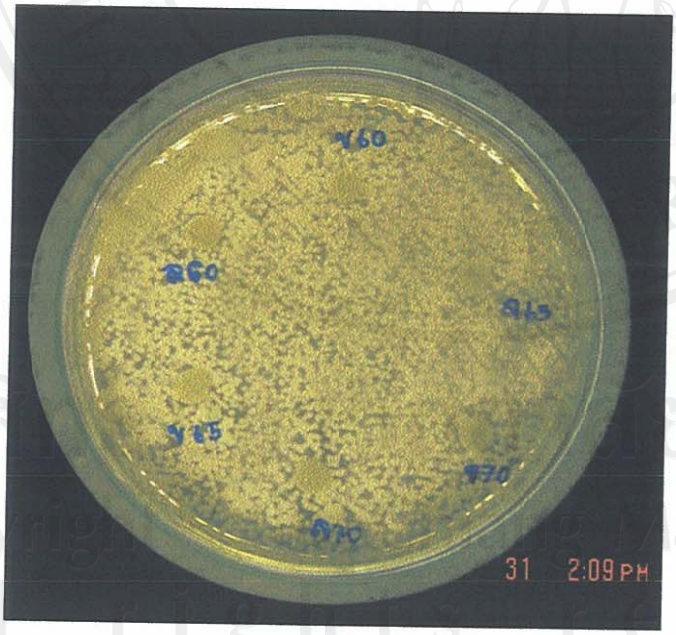
ภาพที่ 32 จุลินทรีย์ *C. utilis* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 60 65 และ 70

ภาพที่ 33 จุลินทรีย์ *C. utilis* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 60 65 และ 70

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

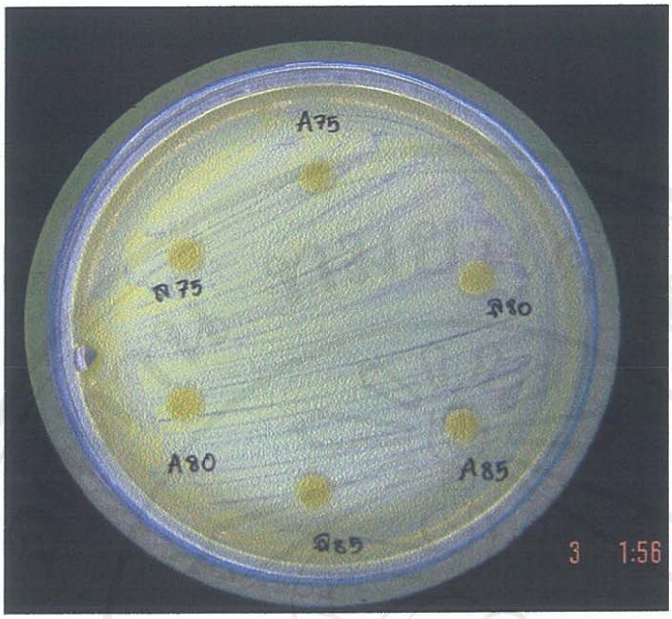


ภาพที่ 34 จุลินทรีย์ *S. cerevisiae* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 60 65 และ 70

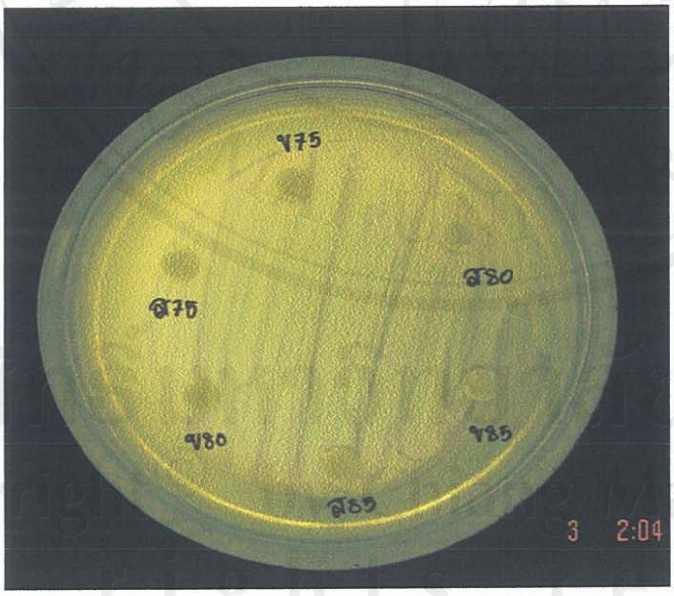


ภาพที่ 35 จุลินทรีย์ *S. cerevisiae* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 60 65 และ 70

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

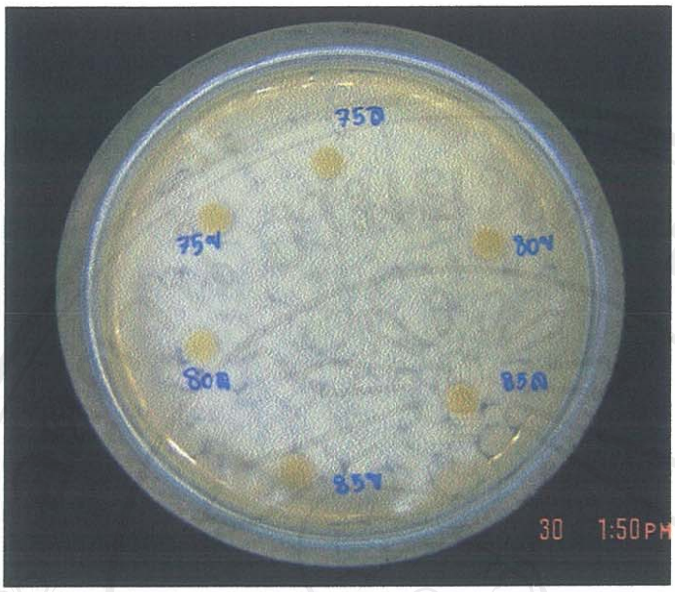


ภาพที่ 36 จุลินทรีย์ *M. luteus* ไม่ถูกยับยั้งโดยสารละลายน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 75 80 และ 85

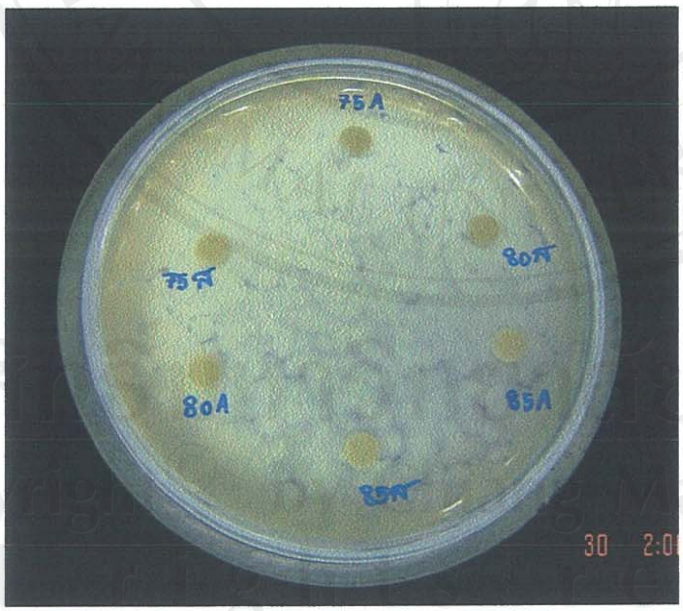


ภาพที่ 37 จุลินทรีย์ *M. luteus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 75 80 และ 85

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

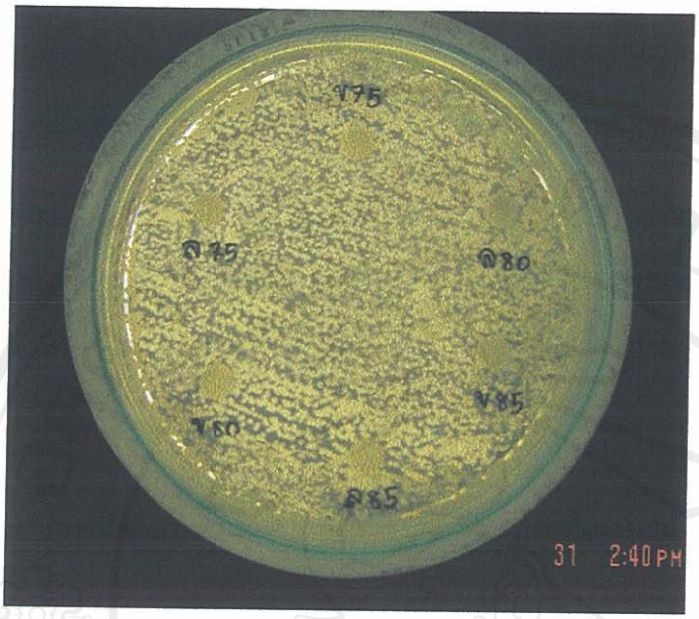


ภาพที่ 38 จุลินทรีย์ *B. cereus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 75 80 และ 85

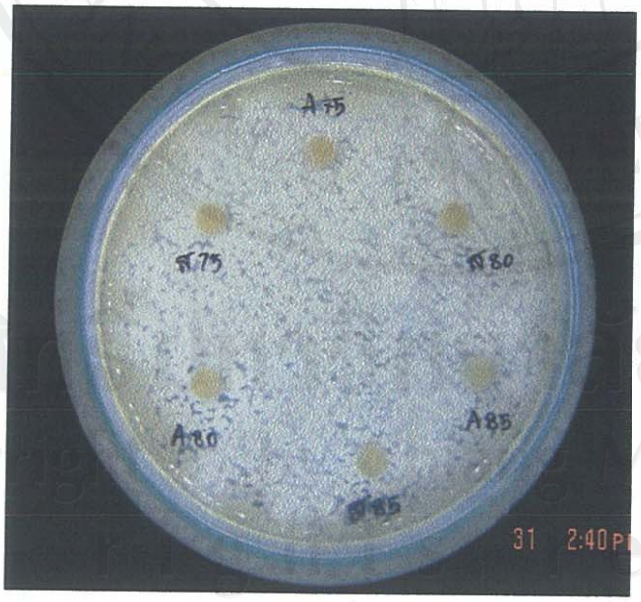


ภาพที่ 39 จุลินทรีย์ *B. cereus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และ น้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 75 80 และ 85

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



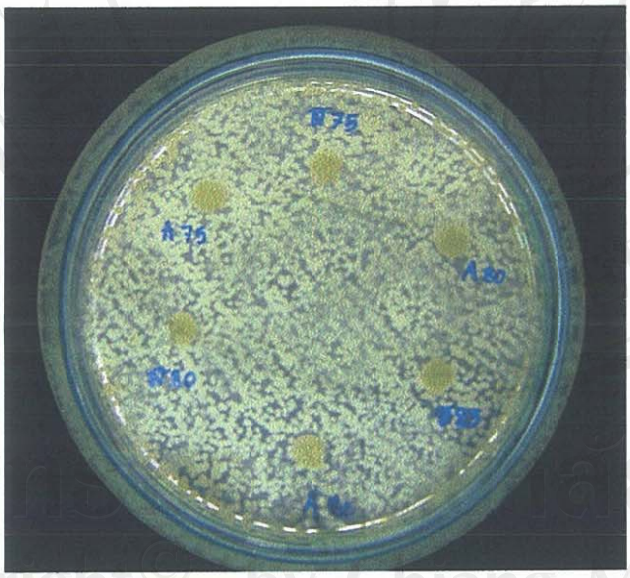
ภาพที่ 40 จุลินทรีย์ *C. utilis* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจาง ร้อยละ 75 80 และ 85



ภาพที่ 41 จุลินทรีย์ *C. utilis* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 75 80 และ 85

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

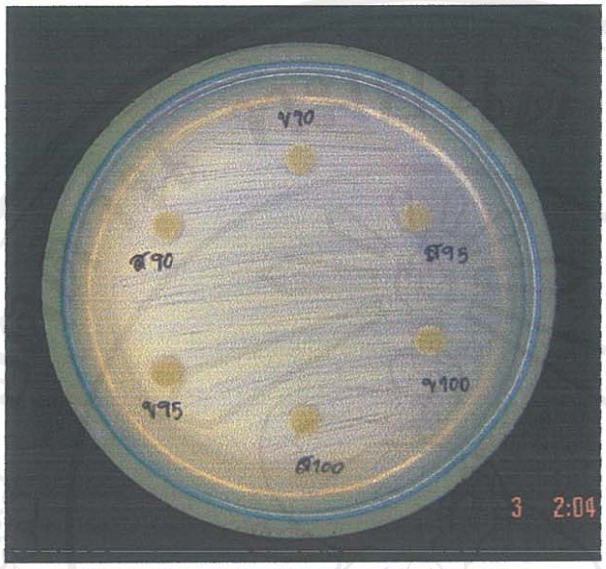
ภาพที่ 42 จุลินทรีย์ *S. cerevisiae* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 75 80 และ 85



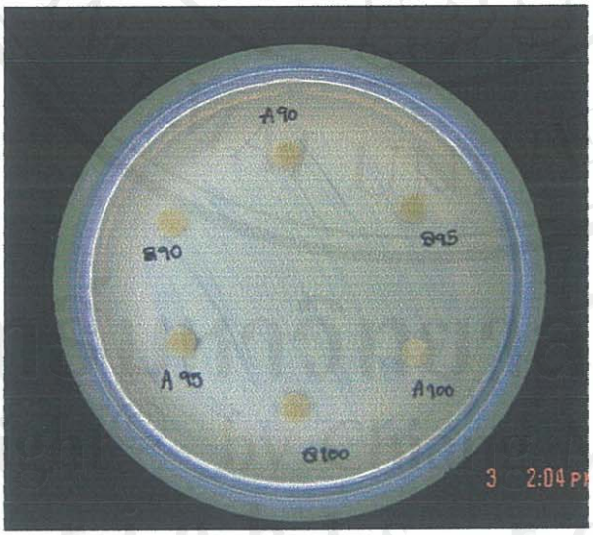
ภาพที่ 43 จุลินทรีย์ *S. cerevisiae* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และ น้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 75 80 และ 85

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

และจากการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำผึ้งเพื่อศึกษาการยับยั้งเชื้อ *B. cereus M. luteus C. utilis* และ *S. cerevisiae* พบว่าไม่เกิดการยับยั้งที่ระดับความเจือจางร้อยละ 90 95 และ 100

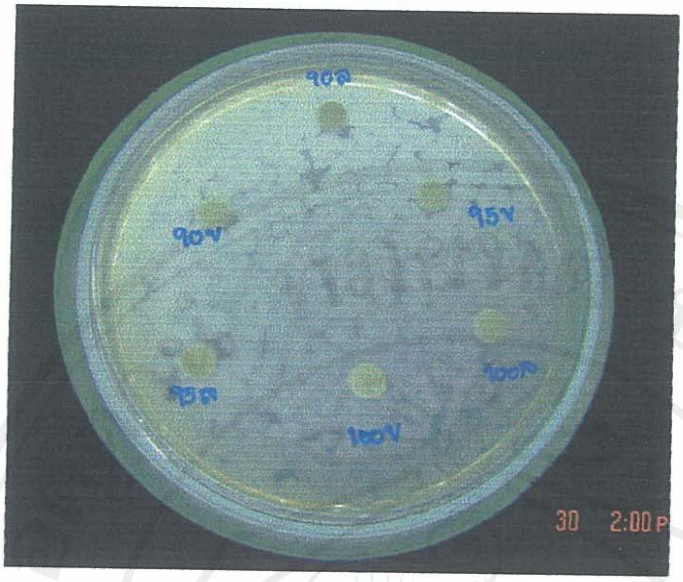


ภาพที่ 44 จุลินทรีย์ *M. luteus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 90 95 และ 100

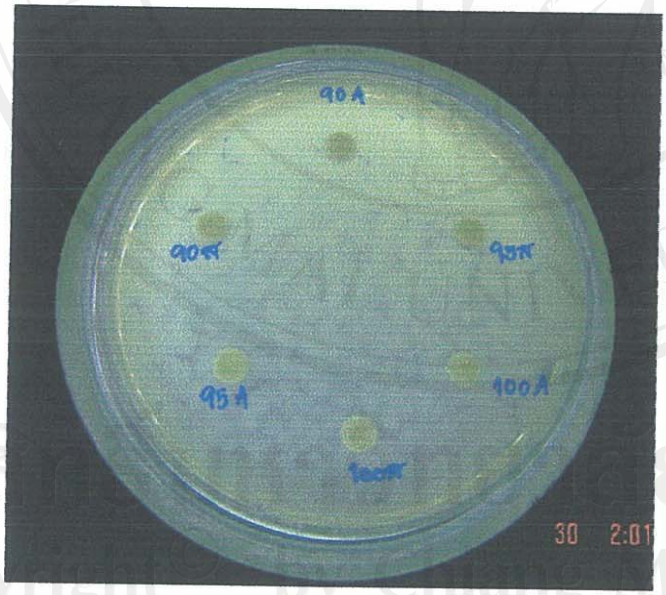


ภาพที่ 45 จุลินทรีย์ *M. luteus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 90 95 และ 100

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

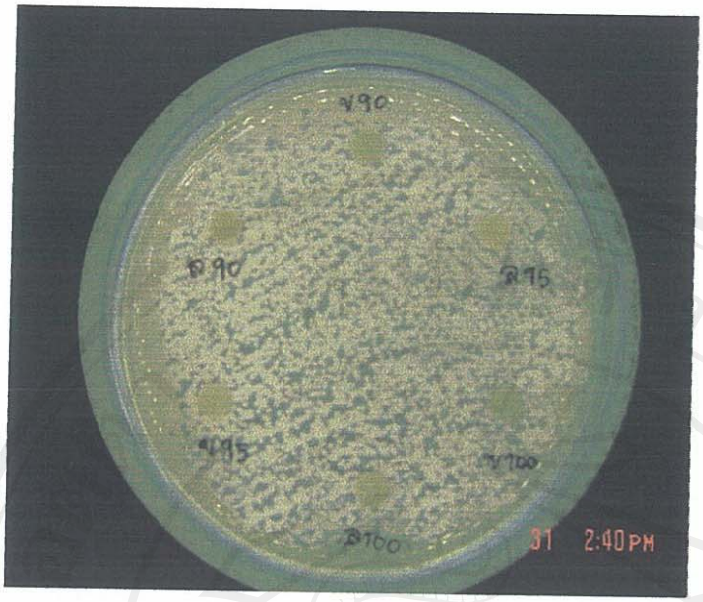


ภาพที่ 46 จุลินทรีย์ *B. cereus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 90 95 และ 100

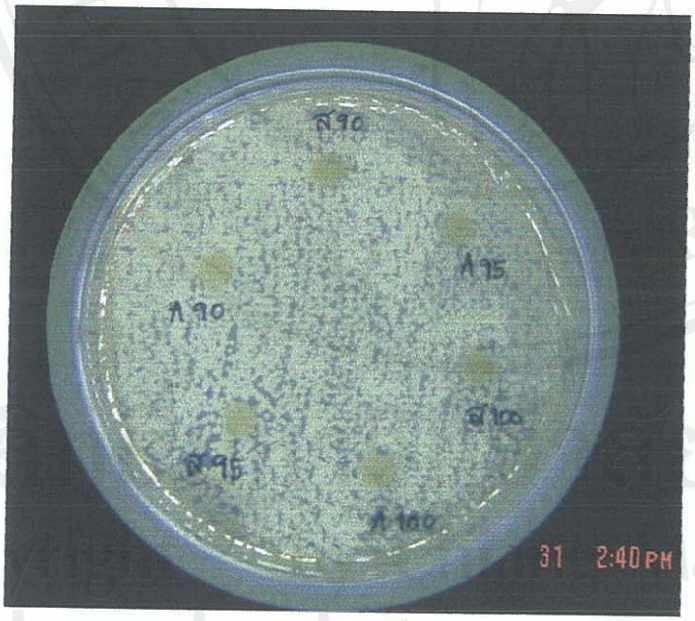


ภาพที่ 47 จุลินทรีย์ *B. cereus* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 90 95 และ 100

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



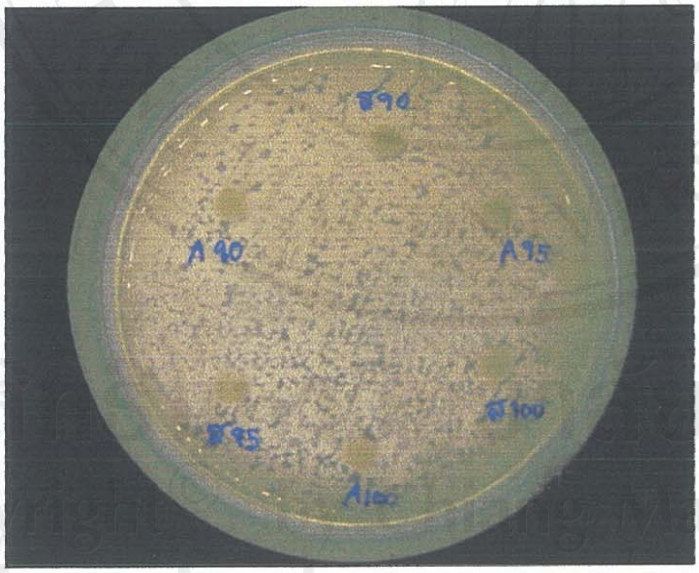
ภาพที่ 48 จุลินทรีย์ *C. utilis* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 90 95 และ 100



ภาพที่ 49 จุลินทรีย์ *C. utilis* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และ น้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 90 95 และ 100

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 50 จุลินทรีย์ *S. cerevisiae* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย (ล) และ น้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ความเจือจางร้อยละ 90 95 และ 100



ภาพที่ 51 จุลินทรีย์ *S. cerevisiae* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งเทียม (A) ความเจือจางร้อยละ 90 95 และ 100

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการศึกษาในตอนที่ 2 สรุปได้ว่า น้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่นำมาศึกษา มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ *Enterobacter aerogenes Serratia marcescens* และ *Pseudomonas fluorescens* โดยน้ำผึ้งที่มีระดับความเจือจางที่สุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดังแสดงในตารางที่ 18

ตารางที่ 18 ชนิดของน้ำผึ้งและระดับความเจือจางที่สุดของน้ำผึ้งที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์	ชนิดของน้ำผึ้ง	ระดับความเจือจางที่สุดของน้ำผึ้งที่สามารถยับยั้งการเจริญได้ (ร้อยละ)
Enterobacter aerogenes	ลำไย	35
	สาบเสือ	30
	ขี้ไก่ย่าน	30
Serratia marcescens	ลำไย	35
	สาบเสือ	30
	ขี้ไก่ย่าน	30
Pseudomonas fluorescens	สาบเสือ	45
	ขี้ไก่ย่าน	45

หมายเหตุ: เชื้อ *Micrococus luteus Bacillus cereus Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida utilis* ไม่ถูกยับยั้งโดยน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ไม่ได้เจือจาง (ร้อยละ 100)

4.3 ผลการศึกษาการเหลือรอดของเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ที่ระยะเวลาต่างๆ

เชื้อจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งด้วยน้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางต่างๆ คือ เชื้อ *E. aerogenes S. marcescens* และ *P. fluorescens* ได้ถูกนำมาศึกษาการเหลือรอด เมื่ออยู่ในน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน พบว่าจุลินทรีย์ *E. aerogenes S. marcescens* และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

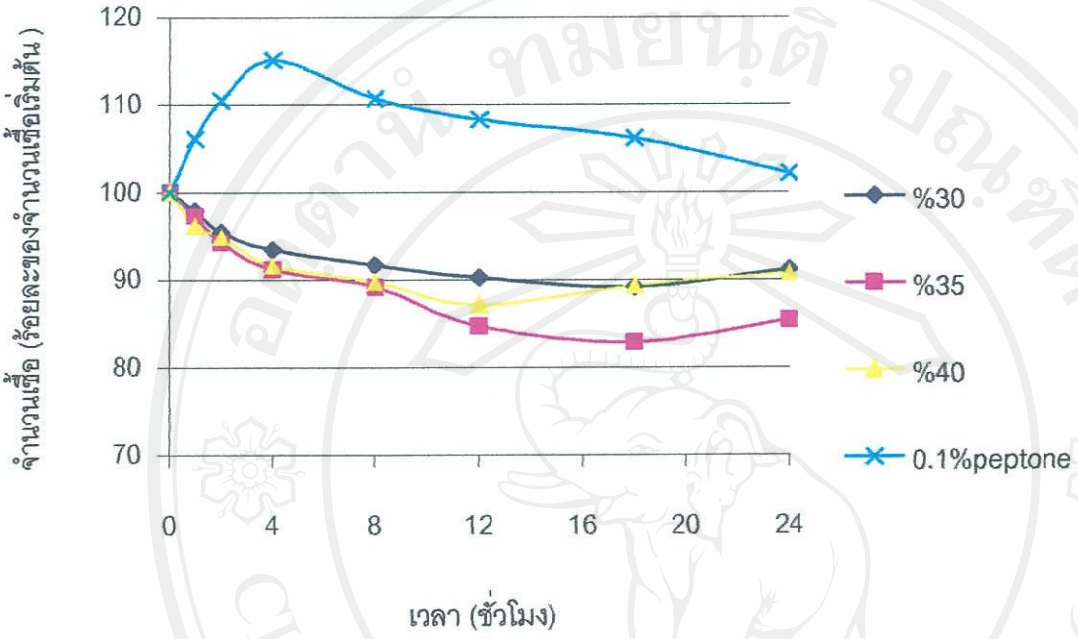
P. fluorescens มีจำนวนลดลงจากปริมาณเชื้อเริ่มต้น ผลการลดลงของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำผึ้งเจือจาง ดังแสดงในตารางที่ ค-1 ถึง ค-8

4.3.1 การเหลือรอดของเชื้อ *E. aerogenes* ในน้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางต่างๆ

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อ *E. aerogenes* ในน้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40 ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งนับจำนวนเชื้อโดยวิธี surface spread plate แสดงเป็นร้อยละของการเหลือรอด ดังแสดงในภาพที่ 52 และรายละเอียดของจำนวน *E. aerogenes* ที่ลดลงจากจำนวนเริ่มต้น ทุก 1 2 4 8 12 18 และ 24 ชั่วโมงแสดงในภาคผนวก ค-1 ซึ่งพบว่าจำนวน *E. aerogenes* ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 12 ชั่วโมงแรก และการลดจำนวนจุลินทรีย์จะช้าลงในช่วงเวลา 12-18 ชั่วโมง และที่เวลา 18 ชั่วโมง มีจำนวน *E. aerogenes* คงเหลือร้อยละ 89.18 ของจำนวนเชื้อเริ่มต้น แต่ทั้งนี้ *E. aerogenes* มีการปรับตัวเพิ่มจำนวนขึ้นอีกในชั่วโมงที่ 24 โดยมีจำนวนคงเหลือเพิ่มเป็นร้อยละ 91.14 ของจำนวนเชื้อเริ่มต้น

การลดลงของจำนวนเชื้อ *E. aerogenes* ในน้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40 คาดว่ามีความสัมพันธ์กับสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้ง การที่จุลินทรีย์ *E. aerogenes* ในน้ำผึ้งสาบเสือมีการลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วใน 12 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นจึงลดลงอย่างช้าๆ ทั้งนี้ Molan (1992) ได้รายงานว่าเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสในน้ำผึ้ง สามารถเร่งปฏิกิริยาการสร้างสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และกรดกลูโคนิค แต่จะไม่สามารถทำงานได้เมื่อน้ำผึ้งมีความเจือจางต่ำลง (ความเข้มข้นสูงขึ้น) เนื่องจากสภาวะความเป็นกรดของน้ำผึ้งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส ดังนั้นในช่วงแรกที่น้ำผึ้งถูกเจือจางและทำให้ความเข้มข้นลดลง สภาวะความเป็นกรดในน้ำผึ้งจึงลดลง ทำให้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสอยู่ในสภาวะที่ทำงานได้ และเร่งปฏิกิริยาการสร้างสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และกรดกลูโคนิค ซึ่งสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์น่าจะมีผลทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรก และเมื่อเวลาผ่านไปปริมาณกรดกลูโคนิคที่ถูกสร้างขึ้นจากปฏิกิริยาเดียวกันกับการสร้างสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำผึ้งจึงต่ำลง ซึ่งอาจส่งผลให้เอนไซม์ทำงานได้น้อยลงอีกครั้ง และสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์มีปริมาณลดลง ทำให้จุลินทรีย์ *E. aerogenes* ที่ยังเหลือรอดอยู่มีการอัตราการลดลงอย่างช้าๆ ในช่วงหลัง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

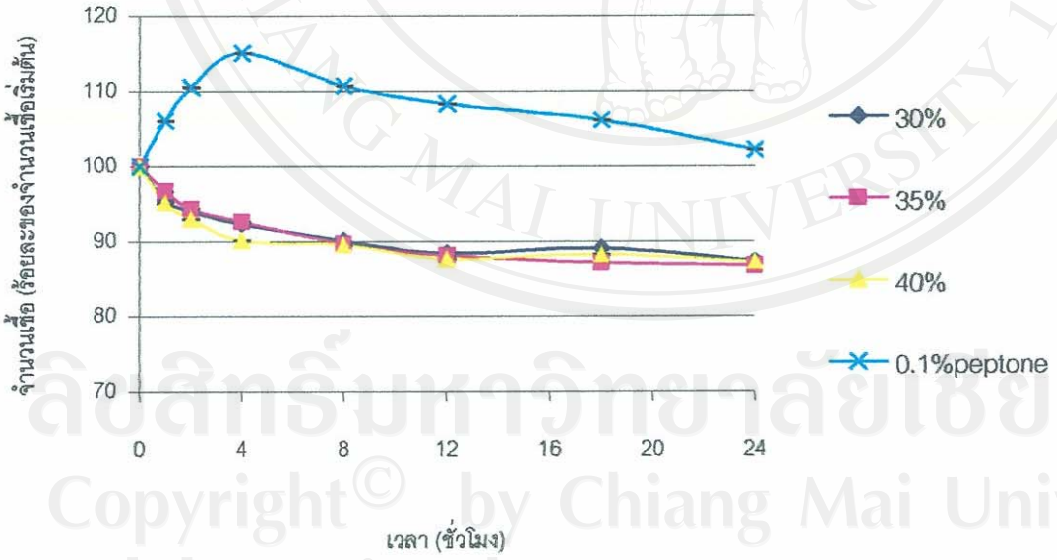


ภาพที่ 52 การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ *E. aerogenes* ในน้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2 การเหลือรอดของเชื้อ *E. aerogenes* ในน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ

การเหลือรอดของเชื้อ *E. aerogenes* ในน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40 ภายในระยะเวลาที่จุลินทรีย์ *E. aerogenes* อยู่ในน้ำผึ้ง 24 ชั่วโมง ซึ่งนับจำนวนเชื้อโดยวิธี surface spread plate แสดงเป็นร้อยละของการเหลือรอด ดังแสดงในภาพที่ 53 และแสดงรายละเอียดของจำนวนจุลินทรีย์ที่ลดลงจากจำนวนเริ่มต้น ทุก 1 2 4 8 12 18 และ 24 ชั่วโมง ในภาคผนวก ค-2 ซึ่งพบว่าเชื้อ *E. aerogenes* มีอัตราการลดลงค่อนข้างเร็วเมื่อเวลาผ่านไป 4 ชั่วโมง โดยเมื่อระยะเวลาที่เชื้อจุลินทรีย์อยู่ในน้ำผึ้งผ่านไป 12 และยังคงลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 24 เหลือจุลินทรีย์ในน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40 เท่ากับร้อยละ 87.39 86.75 และ 87.30 ตามลำดับ และสาเหตุของการลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกนั้น น่าจะเกิดจาก เหตุผลเดียวกับที่ได้อธิบายไว้ในข้อ 3.1



ภาพที่ 53 การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ *E. aerogenes* ในน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

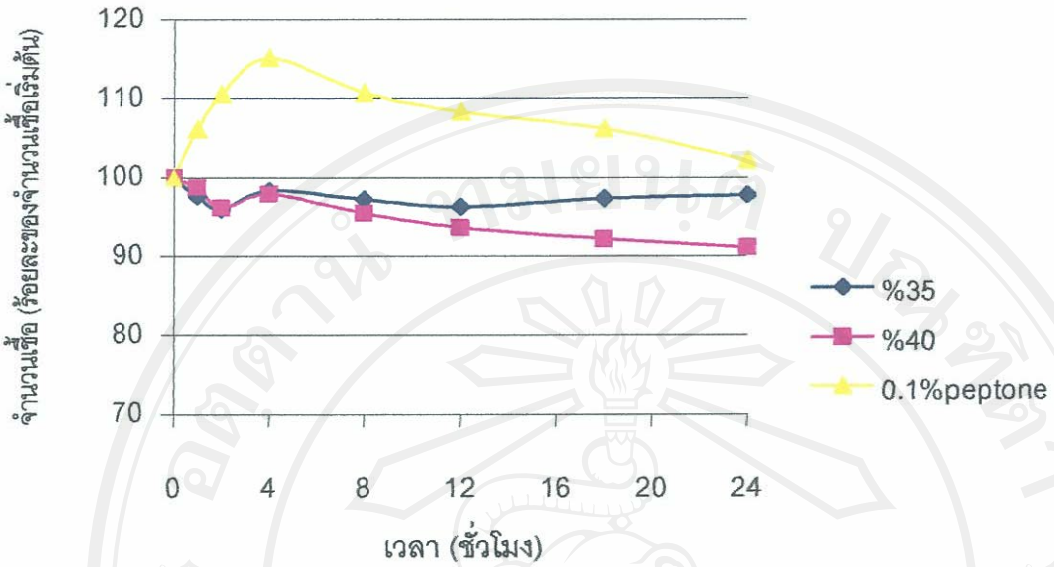
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.3.3 การเหลือรอดของเชื้อ *E. aerogenes* ในน้ำผึ้งลำไยที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ

การเหลือรอดของเชื้อ *E. aerogenes* ในน้ำผึ้งลำไยที่ระดับความเจือจางร้อยละ 35 และ 40 ซึ่งนับจำนวนเชื้อโดยวิธี surface spread plate แสดงเป็นร้อยละของการเหลือรอด ดังแสดงในภาพที่ 54 และแสดงรายละเอียดของจำนวนจุลินทรีย์ที่ลดลงจากจำนวนเริ่มต้น ทุก 1 2 4 8 12 18 และ 24 ชั่วโมงในภาคผนวก ค-3 ซึ่งพบว่า เชื้อ *E. aerogenes* ลดลงอย่างรวดเร็วที่ชั่วโมงที่ 2 ของเวลาที่อยู่ในน้ำผึ้ง และสามารถปรับตัวเพิ่มขึ้นได้ในชั่วโมงที่ 4 ซึ่งพบว่ามีการลดจำนวนลงอย่างต่อเนื่องในน้ำผึ้งลำไยที่ระดับความเจือจางร้อยละ 40 โดยในชั่วโมงที่ 24 สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ลงเหลือร้อยละ 91.12 ของจำนวนเชื้อเริ่มต้นและในน้ำผึ้งลำไยที่ระดับความเจือจางร้อยละ 35 มีการลดจำนวนจุลินทรีย์ได้เพียงเล็กน้อย โดยลดลงเหลือร้อยละ 97.74 ของจำนวนเชื้อเริ่มต้นภายในเวลา 24 ชั่วโมง

จากการศึกษาบริเวณยับยั้งของเชื้อ *E. aerogenes* ด้วยวิธี disc diffusion method (ภาพที่ 12) โดยเมื่อสังเกตดูบริเวณใสที่เกิดขึ้นจากการยับยั้งของสารละลายน้ำผึ้งลำไยที่ระดับความเจือจางร้อยละ 35 และ 40 พบว่า ขอบของบริเวณใสไม่เรียบ มีการเจริญของเชื้อขึ้นมาประปราย ซึ่งมาลิน จุลศิริ (2540) ได้กล่าวถึงการเกิดบริเวณใสในลักษณะนี้ว่า อาจเกิดขึ้นจากเชื้อจุลินทรีย์สามารถปรับตัวต้านทานสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งได้ หรืออาจเกิดจากกลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์เอง การปรับตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้นของเชื้อจุลินทรีย์ *E. aerogenaes* ในชั่วโมงที่ 4 จึงอาจเกิดได้จาก สมบัติของเชื้อ *E. aerogrenes* ที่สามารถปรับตัวต้านทานการยับยั้งของน้ำผึ้งได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 54 การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ *E. aerogenes* ในน้ำผึ้งลำไยที่ระดับความเจือจางร้อยละ 35 และ 40

3.4 การเหลือรอดของเชื้อ *S. marcescens* ในน้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ

การเหลือรอดของเชื้อ *S. marcescens* ในน้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40 ภายในระยะเวลาที่จุลินทรีย์อยู่ในน้ำผึ้ง 24 ชั่วโมง ซึ่งนับจำนวนเชื้อที่เหลือรอดโดยวิธี surface spread plate แสดงเป็นร้อยละของการเหลือรอด ดังภาพที่ 55 และแสดงรายละเอียดของจำนวนจุลินทรีย์ที่ลดลงจากจำนวนเริ่มต้น ทุก 1 2 4 8 12 18 และ 24 ชั่วโมงในภาคผนวก ค-4 แสดงให้เห็นว่า เชื้อ *S. marcescens* มีอัตราการลดลงเมื่อเวลาผ่านไป โดยมีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็วที่ชั่วโมงที่ 1 หลังจากนั้นจึงลดลงอย่างช้าๆ โดยในชั่วโมงที่ 24 จุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำผึ้งระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40 มีจำนวนลดลงเหลือร้อยละ 80.12 77.47 และ 64.93 ตามลำดับ ซึ่งเชื้อ *S. marcescens* ในน้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 40 มีการลดลงสูงสุด ทั้งนี้สาเหตุของการลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกนั้น น่าจะเกิดจากเหตุผลเดียวกับที่ได้อธิบายไว้ในข้อ 3.1

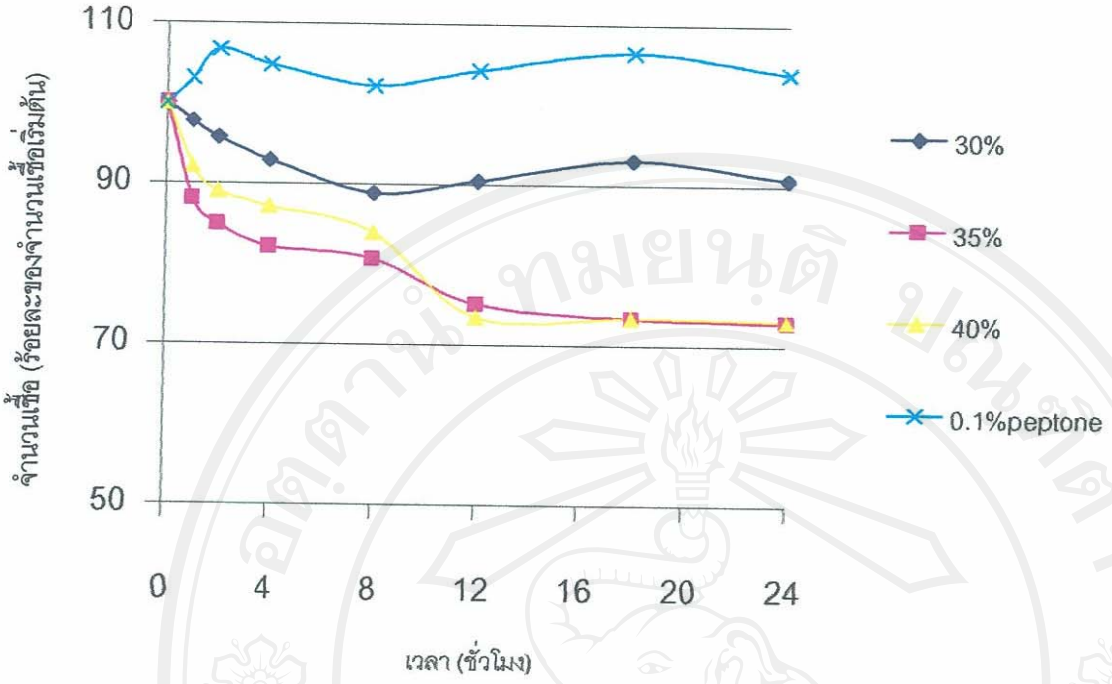
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 55 การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ *S. marcescens* ในสารละลายน้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

3.5 การเหลือรอดของเชื้อ *S. marcescens* ในน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ระดับความเจือจางต่างๆ

การศึกษาการเหลือรอดของจุลินทรีย์ *S. marcescens* ในน้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40 ภายในระยะเวลาที่จุลินทรีย์อยู่ในน้ำผึ้ง 24 ชั่วโมง ซึ่งนับจำนวนเชื้อโดยวิธี surface spread plate แสดงเป็นร้อยละของการเหลือรอด ดังภาพภาพที่ 56 และแสดงรายละเอียดของจำนวนจุลินทรีย์ที่ลดลงจากจำนวนเริ่มต้น ทุก 1 2 4 8 12 18 และ 24 ชั่วโมง ในภาคผนวก ค-5 พบว่าเชื้อ *S. marcescens* มีอัตราการลดลงเมื่อเวลาผ่านไป โดยมีการลดลงอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 1 และยังคงลดลงอีกอย่างต่อเนื่องเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง และหลังจากนั้นจะมีการลดลงอย่างช้าๆ จนถึงชั่วโมงที่ 24 ซึ่งพบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *S. marcescens* ในสารละลายน้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจาง 30 35 และ 40 ลงจนเหลือจำนวนจุลินทรีย์ร้อยละ 90.73 72.95 และ 73.10 ตามลำดับ ทั้งนี้สาเหตุการลดจำนวนจุลินทรีย์ลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรก น่าจะเกิดขึ้นเนื่องจากเหตุผลเดียวกันกับที่อธิบายไว้ในตอนที่ 3.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



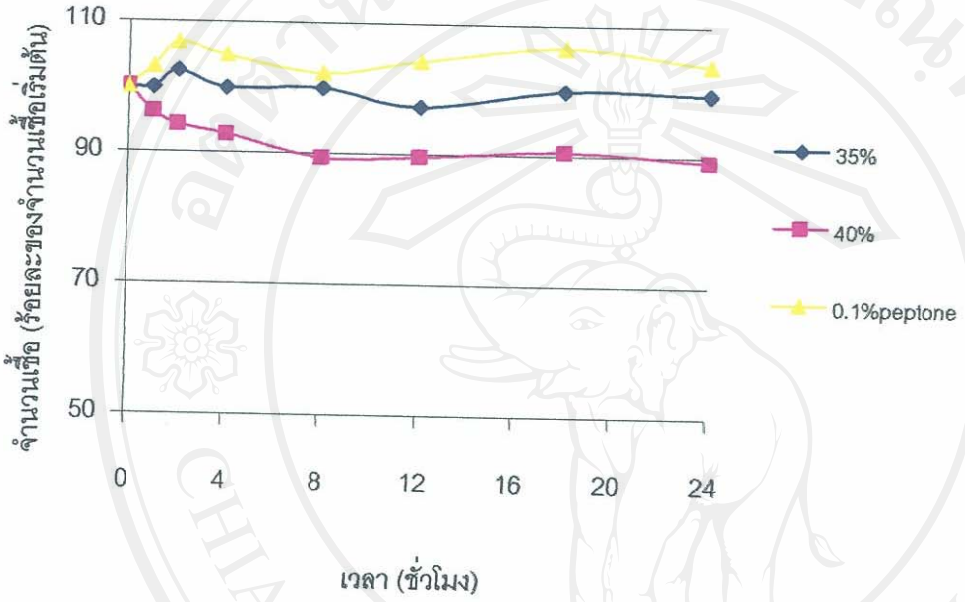
ภาพที่ 56 การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ *S. marcescens* ในน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

3.6 การเหลือรอดของเชื้อ *S. marcescens* ในน้ำผึ้งลำไยที่ระดับความเจือจางต่างๆ

การเหลือรอดของเชื้อ *S. marcescens* ในสารละลายน้ำผึ้งลำไย ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 35 และ 40 ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งนับจำนวนเชื้อโดยวิธี surface spread plate แสดงเป็นร้อยละของการเหลือรอด ดังแสดงในภาพที่ 57 และแสดงรายละเอียดของจำนวนจุลินทรีย์ที่ลดลงจากจำนวนเริ่มต้น ทุก 1 2 4 8 12 18 และ 24 ชั่วโมงในภาคผนวก ค-6 แสดงให้เห็นว่า เชื้อ *S. marcescens* มีจำนวนลดลงมากที่สุดในชั่วโมงที่ 24 โดยจำนวนเชื้อในน้ำผึ้งลำไยที่ระดับความเจือจางร้อยละ 40 มีการลดลงสูงกว่าจำนวนเชื้อในน้ำผึ้งลำไย ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 35 ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์เกิดจากสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ถูกสร้างขึ้นในน้ำผึ้ง จากภาพที่ 64 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า เชื้อ *S. marcescens* ในน้ำผึ้งลำไยที่ระดับความเจือจางร้อยละ 40 มีอัตราการลดลงอย่างช้าๆ อาจเกิดขึ้นเนื่องจากน้ำผึ้งลำไยสามารถสร้างสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ได้ในปริมาณน้อย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จึงทำให้เกิดการยับยั้งจุลินทรีย์ได้อย่างช้าๆ โดยเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง จำนวนเชื้อ *S. marcescens* ในสารละลายน้ำผึ้งลำไยที่ระดับความเจือจางร้อยละ 40 ลดลงเหลือร้อยละ 89.26 และที่ระดับความเจือจางร้อยละ 35 มีจำนวนเชื้อที่เหลืออยู่ร้อยละ 99.52 ของจำนวนเชื้อเริ่มต้น

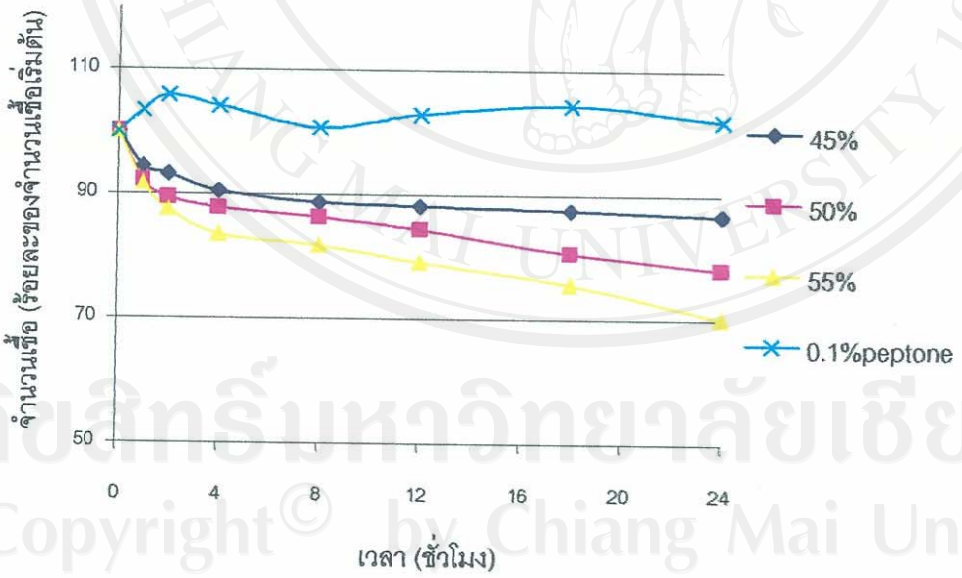


ภาพที่ 57 การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ *S. marcescens* ในน้ำผึ้งลำไย ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.7 การเหลือรอดของเชื้อ *P. fluorescens* ในน้ำผึ้งสาบเสือเจือจางที่ระดับความเจือจางต่างๆ

การเหลือรอดของเชื้อ *P. fluorescens* ในน้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 35 และ 40 ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งนับจำนวนเชื้อโดยวิธี surface spread plate แสดงเป็นร้อยละของการเหลือรอด ภาพที่ 58 และแสดงรายละเอียดของจำนวนจุลินทรีย์ที่ลดลงจากจำนวนเริ่มต้น ทุก 1 2 4 8 12 18 และ 24 ชั่วโมงในภาคผนวก ค-7 แสดงให้เห็นว่า เชื้อ *P. fluorescens* มีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 0-4 และลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 24 โดยจำนวนเชื้อลดลงมากที่สุด เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง ซึ่งจำนวนเชื้อ *P. fluorescens* ในน้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55 มีการเหลือรอดภายหลังจากเวลา 24 ชั่วโมงเท่ากับร้อยละ 82.52 78.50 และ 73.15 ตามลำดับและการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกน่าจะเกิดจากเหตุผลเดียวกันกับที่ได้อธิบายไว้ในข้อ 3.1



ภาพที่ 58 การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ *P. fluorescens* ในน้ำผึ้งสาบเสือ ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55

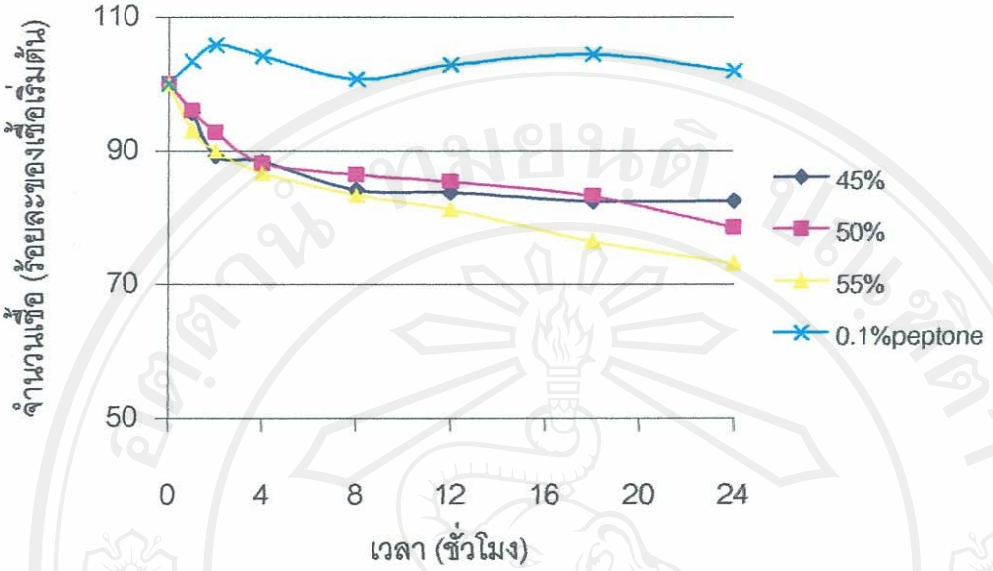
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.3.8 การเหลือรอดของเชื้อ *P.fluorescens* ในน้ำผึ้งน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านเจือจางที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ

ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 35 และ 40 ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งนับจำนวนเชื้อโดยวิธี surface spread plate แสดงเป็นร้อยละของการเหลือรอด ดังแสดงในภาพที่ 59 และแสดงรายละเอียดของจำนวนจุลินทรีย์ที่ลดลงจากจำนวนเริ่มต้น ทุก 1 2 4 8 12 18 และ 24 ชั่วโมงในภาคผนวก ค-8 พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ *P. fluorescens* ในน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านมีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 0-2 และหลังจากนั้น จะมีการลดลงอย่างต่อเนื่อง และลดลงมากที่สุดในชั่วโมงที่ 24 ซึ่งพบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *P. fluorescens* ในน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40 ลง เหลือจำนวนร้อยละ 82.52 78.50 และ 73.15 ตามลำดับ ทั้งนี้การลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกน่าจะเกิดขึ้นเนื่องจากเหตุผลเดียวกับดังที่ได้อธิบายไว้ในข้อ 3.1

จากภาพที่ 52-58 พบว่าความสามารถในการลดจำนวนจุลินทรีย์ *S. maecescens* *E. aerogenes* และ *P. fluorescens* ของน้ำผึ้งทั้ง 3 ชนิดมีความแตกต่างกัน ซึ่งคาดว่าเกิดจากกปริมาณสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่มีอยู่ในน้ำผึ้งแต่ละชนิดไม่เท่ากัน รวมทั้งช่วงเวลาที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่างในน้ำผึ้งที่ต่างกัน ทั้งนี้ การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างของน้ำผึ้งแต่ละชนิด จะขึ้นอยู่กับปริมาณของสารที่มีสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ที่พบในน้ำผึ้งชนิดนั้น โดยน้ำผึ้งแต่ละชนิด จะมีปริมาณสารที่มีสมบัติเป็นบัฟเฟอร์อยู่ไม่เท่ากัน (ลักขณาและนิธิยา, 2541) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างในน้ำผึ้งจะส่งผลต่อปริมาณสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้งและทำให้มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนจุลินทรีย์ได้แตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 59 การลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ *P. fluorescens* ในสารละลายน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55

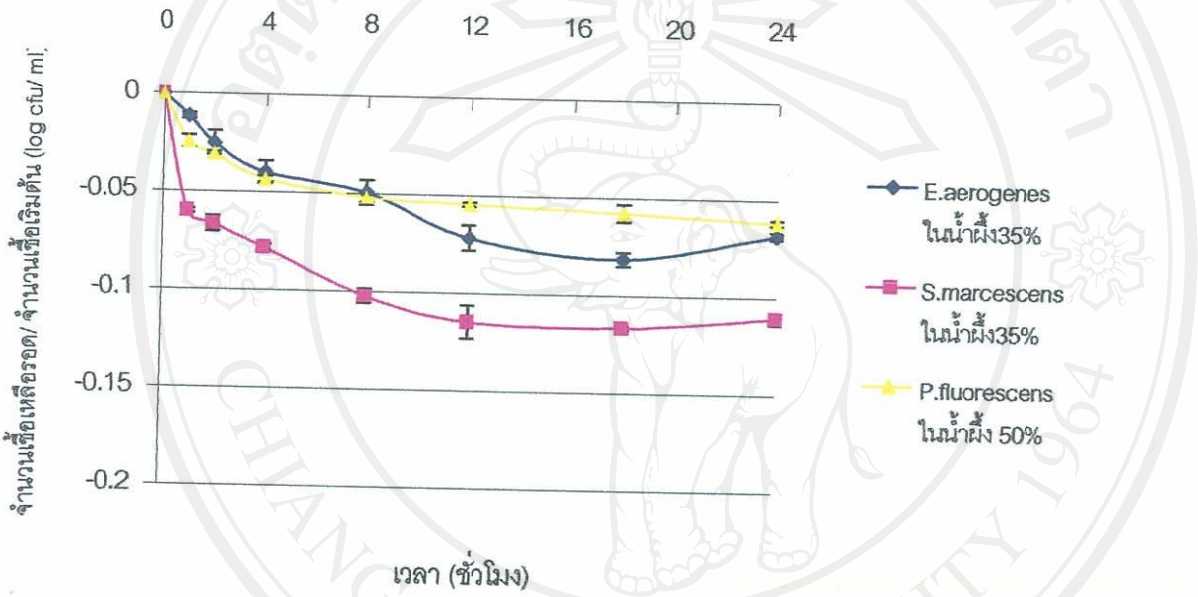
3.9 เปรียบเทียบการเหลือรอดของเชื้อจุลินทรีย์ *E. aerogenes S. marcescens* และ *P. fluorescens* ในน้ำผึ้ง

จากข้อมูลที่ได้จากการทดลองที่ผ่านมา โดยการนำเชื้อจุลินทรีย์ที่ไวต่อการยับยั้งด้วยน้ำผึ้ง ได้แก่ เชื้อจุลินทรีย์ *E. aerogenes S. marcescens* และ *P. fluorescens* มาศึกษาการเหลือรอดของจุลินทรีย์ในน้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางต่างๆ ในข้อ 3.1-3.8 ซึ่งตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ที่เหลือรอด ด้วยวิธี surface spread plate แล้วนำข้อมูลของจำนวนมาเปรียบเทียบการเหลือรอดของเชื้อต่างๆในน้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 60–67 พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ *S. marcescens* ถูกยับยั้งได้มากกว่าเชื้อจุลินทรีย์ *E. aerogenes* ในทุกระดับความเจือจางของน้ำผึ้งสาบเสือ น้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน และน้ำผึ้งลำไย ยกเว้นในน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 ซึ่ง *S. marcescens* มีการลดจำนวนลงมากกว่าเชื้อ *E. aerogenes* ในชั่วโมงที่ 8 และ *S. marcescens* มีการเพิ่มจำนวนมากกว่าเชื้อ *E. aerogenes* ในชั่วโมงที่ 12 –24 การที่จุลินทรีย์ *S. marcescens* มีการปรับตัวเพิ่มจำนวนขึ้น คาดเกิดขึ้นจาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

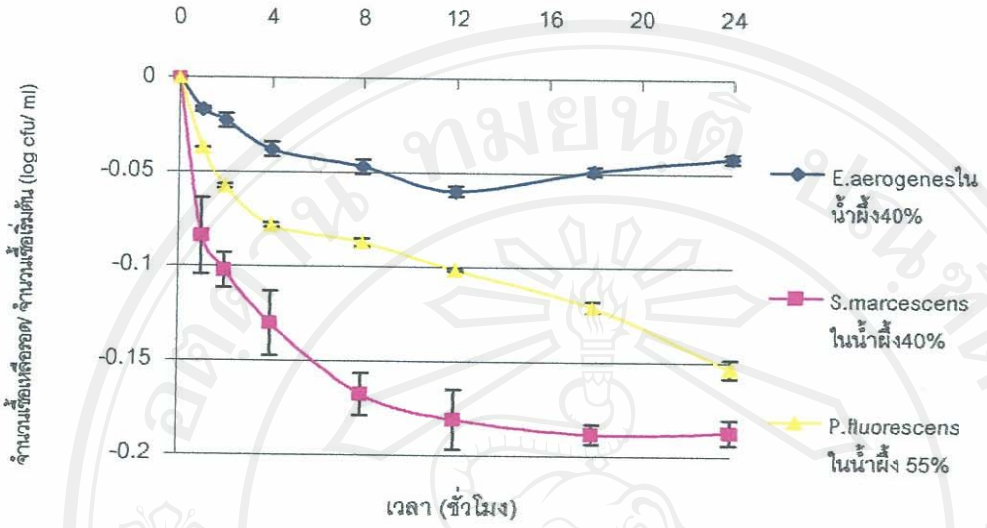
การสร้างสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 30 มีปริมาณน้อยกว่าน้ำผึ้งชนิดอื่น (ตารางที่ 17) จึงทำให้สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้เพียงระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น

สำหรับจุลินทรีย์ *P. fluorescens* ที่อยู่ในน้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางร้อยละ 45 50 และ 55 พบว่า มีอัตราการลดลงใกล้เคียงกับเชื้อจุลินทรีย์ *E. aerogenes* ที่อยู่ในน้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางร้อยละ 30 35 และ 40

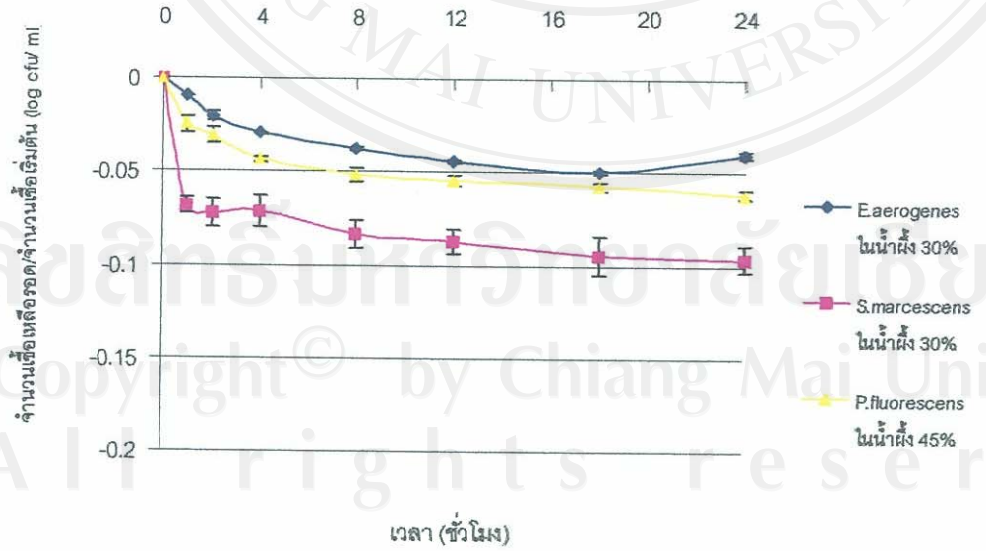


ภาพที่ 60 การลดจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ *E. aerogenes S. marcescens* และ *P. fluorescens* ในน้ำผึ้งสาบเสือ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

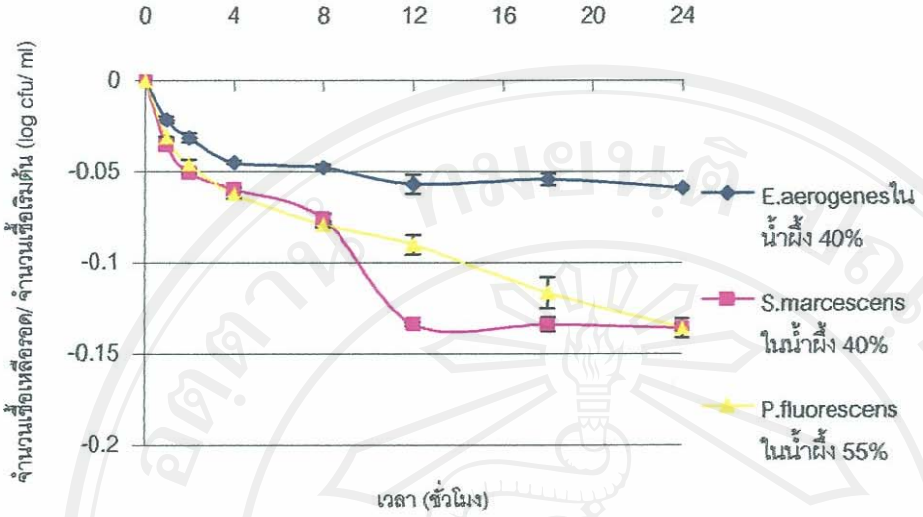


ภาพที่ 61 การลดจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ *E. aerogenes S. marcescens* และ *P. fluorescens* ในน้ำผึ้งสาบเสือ

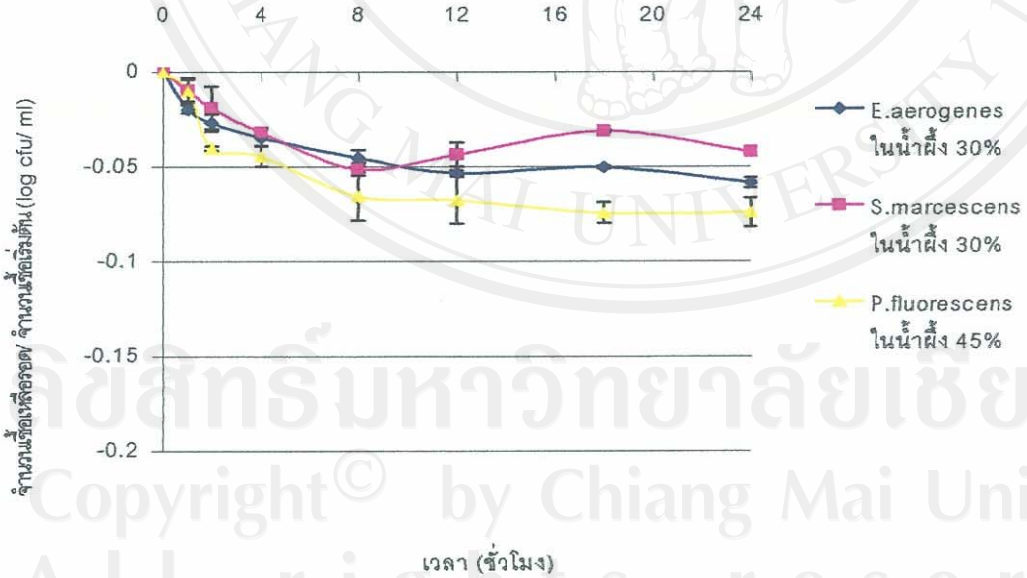


ภาพที่ 62 การลดจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ *E.aerogenes S. marcescens* และ *P. fluorescens* ในน้ำผึ้งสาบเสือ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 63 การลดจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ *E. aerogenes S. marcescens* และ *P. fluorescens* ในน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน



ภาพที่ 64 การลดจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ *E. aerogenes S. marcescens* และ *P. fluorescens* ในน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 65 การลดจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ *E. aerogenes* *S. marcescens* และ *P. fluorescens* ในน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน

ภาพที่ 66 การลดจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ *E. aerogenes* และ *S. marcescens* ในน้ำผึ้งลำไย ที่ระดับความเจือจางร้อยละ 35

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

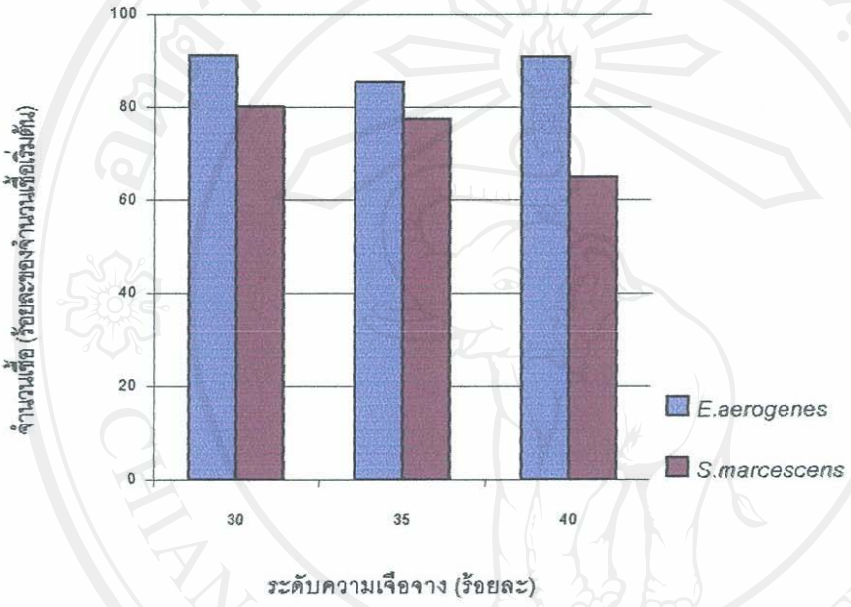
ภาพที่ 67 การลดจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ *E. aerogenes* และ *S. marcescens* ในน้ำผึ้งลำไย

3.10 เปรียบเทียบการเหลือรอดที่เวลา 24 ชั่วโมงของเชื้อจุลินทรีย์ *E. aerogenes* *S. marcescens* และ *P. fluorescens* ที่อยู่ในน้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางต่างกัน

จากการศึกษาการเหลือรอดของจุลินทรีย์ในน้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางต่างๆ ในข้อ 3.1-3.8 แล้วตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ที่เหลือรอดที่เวลา 24 ชั่วโมง ด้วยวิธี surface spread plate นำข้อมูลของจำนวนเชื้อที่เหลือรอดในน้ำผึ้งที่ 24 ชั่วโมง มาสร้างเป็นกราฟแท่งเพื่อเปรียบเทียบการเหลือรอด ดังแสดงในภาพที่ 68-71 พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ *S. marcescens* เหลือรอดได้น้อยกว่าเชื้อจุลินทรีย์ *E. aerogenes* สำหรับการเปรียบเทียบจำนวนที่เหลือรอดที่เวลา 24 ชั่วโมงของเชื้อ *P. fluorescens* ที่อยู่ในน้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน แสดงเป็นกราฟแท่งในภาพที่ 71 พบว่าที่ระดับความเจือจางร้อยละ 45 น้ำผึ้งสาบเสือสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ *P. fluorescens* ลงได้มากกว่าน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน และที่ระดับความเจือจางร้อยละ 50 น้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้ใกล้เคียงกัน ส่วนที่ระดับความเจือจางร้อยละ 55 พบว่าน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ลงได้มากกว่าน้ำผึ้งสาบเสือ ได้ชัดเจน แต่จากที่มีผู้ศึกษาการใช้น้ำผึ้งในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผ่านมา พบว่าสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งนั้นแปรผันได้จาก

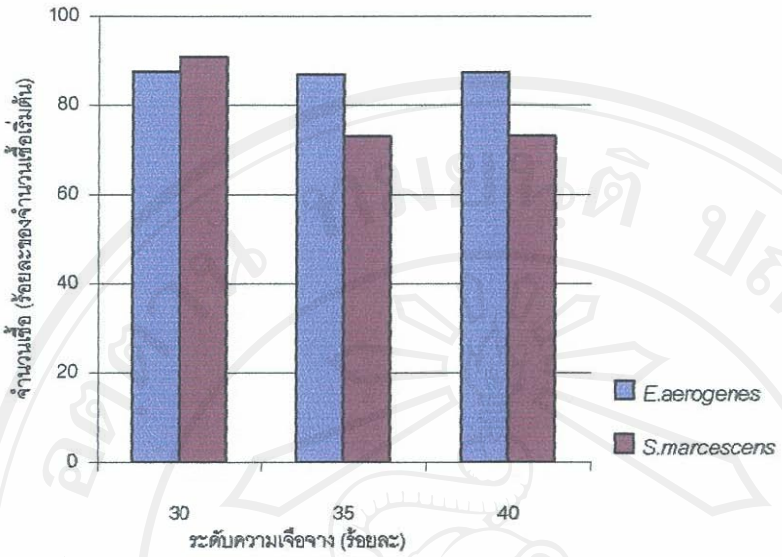
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ชนิดของดอกไม้ที่ให้น้ำหวาน ภูมิประเทศที่ผลิตน้ำผึ้ง ฤดูกาลในการเก็บน้ำผึ้ง ระดับความเจือจางที่ใช้ในการศึกษา และชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาศึกษา (Molan, 1997; Nzeako and Hamdi, 2000; Taormina *et al.*, 2001; Ceyhan and Uguy, 2001; Mundo *et al.*, 2004; Bogdanov, 1997; Willix *et al.*, 1991)

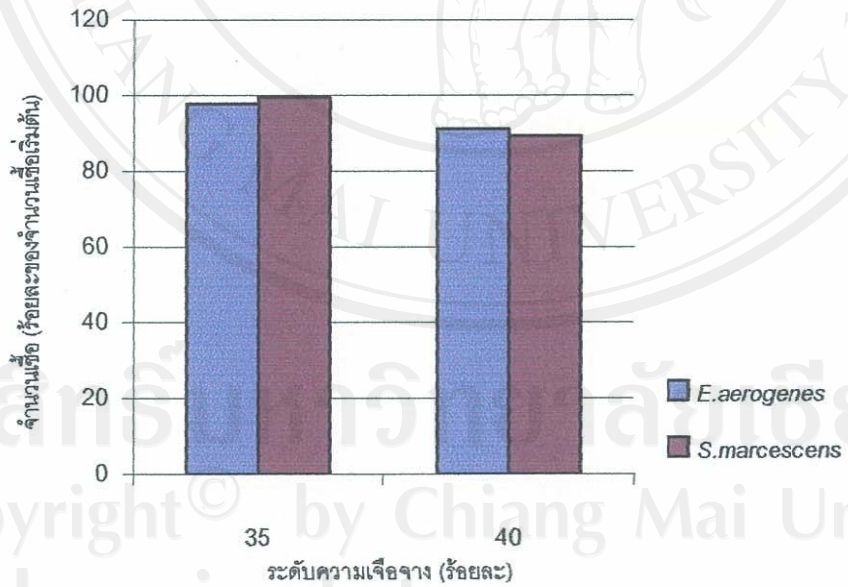


ภาพที่ 68 จำนวนเชื้อ *E. aerogenes* และ *S. marcescens* ที่เหลือรอดในน้ำผึ้งสาบเสือที่เวลา 24 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

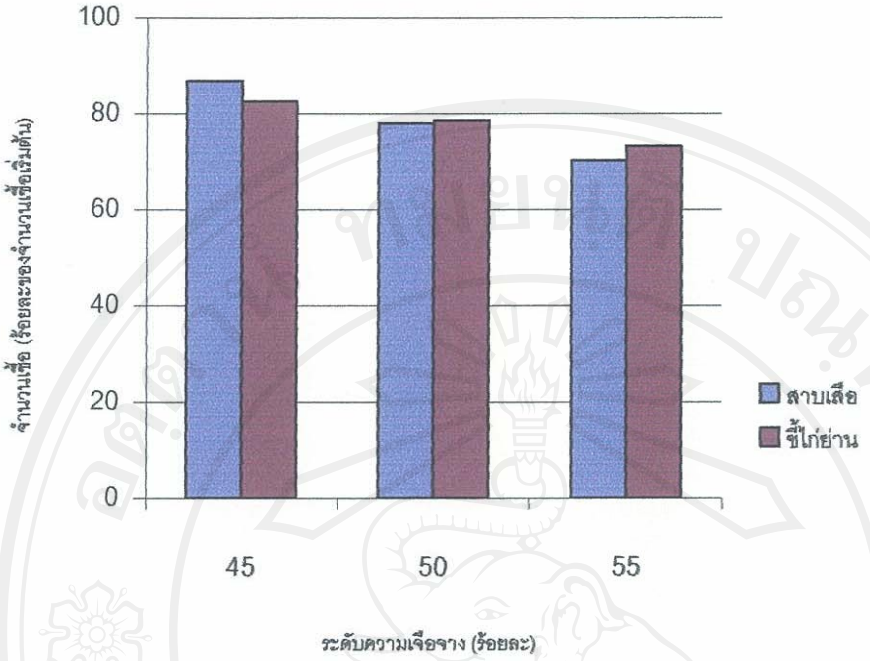


ภาพที่ 69 จำนวนเชื้อ *E. aerogenes* และ *S. marcescens* ที่เหลือรอดในน้ำผึ้งชี้ไก่ย่านที่เวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 70 จำนวนเชื้อ *E. aerogenes* และ *S. marcescens* ที่เหลือรอดในน้ำผึ้งลำไยที่เวลา 24 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 71 จำนวนเชื้อ *P. fluorescens* ที่เหลือรอดในน้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งชี้ไก่ย่าน ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ตอนที่ 4 การศึกษาสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งที่ผ่านและไม่ผ่านการให้ความร้อน

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ปัจจัยหลักที่มีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งคือ สารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และสารประกอบฟีนอลิคในน้ำผึ้ง (Molan, 1992; Willix *et al.*, 1991) โดยสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เป็นสารที่ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อนและแสง โดยมีโลหะและวิตามินซีเป็นสารเร่งการสลายตัว (White *et al.*, 1963; Dustman, 1979) น้ำผึ้งที่เก็บได้จากในธรรมชาติ อาจมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ ดังนั้นเพื่อกำจัดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ผู้ผลิตจึงนิยมนำน้ำผึ้งไปผ่านการให้ความร้อน และการให้ความร้อนยังสามารถลดความชื้นที่มากเกินไปของน้ำผึ้งลงได้ โดยทั่วไปจะนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 71 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที (The National Honey Board, 1985) หรือที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที (Lenskey, 1996)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ดังนั้นเพื่อศึกษาผลของการให้ความร้อนที่มีต่อปริมาณสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้งต่อสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน น้ำผึ้งทั้ง 3 ชนิดได้ถูกนำมาให้ความร้อน โดยแบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ

ชุดที่ 1 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

ชุดที่ 2 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 71 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที

แล้วจึงนำมาศึกษา ดังนี้

4.4.1 ปริมาณสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้งหลังจากผ่านความร้อน

จากการศึกษาปริมาณสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้งที่ผ่านการให้ความร้อน พบว่าน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ผ่านการให้ความร้อนทั้งสองสภาวะ ไม่มีปริมาณสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์หลงเหลืออยู่ในน้ำผึ้งทั้งสามชนิด ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าความร้อนในระดับดังกล่าวทำให้สารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้งสลายตัวไปหมด

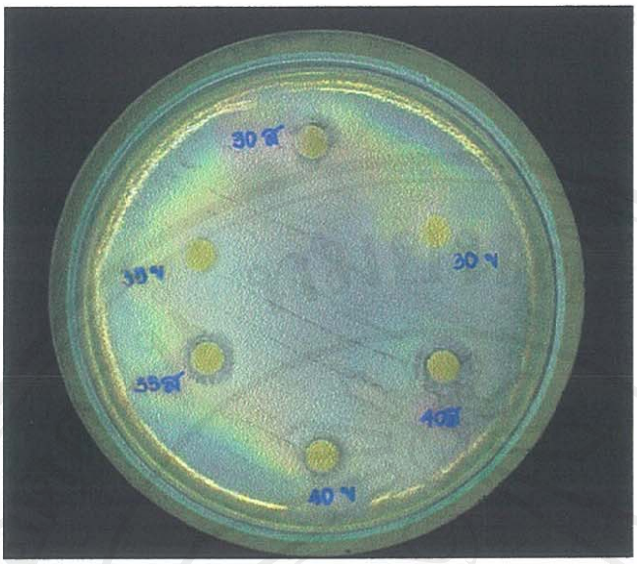
4.4.2 ศึกษาสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งที่ผ่านความร้อนโดย วิธี disc diffusion assay

จากการนำน้ำผึ้งลำไย น้ำผึ้งสาบเสือ และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ผ่านการให้ความร้อนมาศึกษาสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไวต่อการถูกยับยั้งด้วยน้ำผึ้ง จากผลการศึกษาในตอนที่ 2 คือ *S. marcescens* *E. aerogenes* และ *P. fluorescens* โดย วิธี disc diffusion assay ได้ผลดังภาพที่ 72-81 แสดงให้เห็นว่าน้ำผึ้งที่ผ่านการให้ความร้อนชุดที่1 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และชุดที่ 2 ที่อุณหภูมิ 71 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ แต่ทั้งนี้สังเกตพบว่าน้ำผึ้งสามารถสร้างสภาวะที่ไม่เหมาะสมในการเจริญให้กับจุลินทรีย์ได้ โดยเชื้อ *E. aerogenes* (ภาพที่ 72) ที่ทดสอบด้วยน้ำผึ้งที่สาบเสือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 35 และ 40 และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ระดับความเจือจางร้อยละ 40 ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที มีการเจริญที่ไม่ปกติ ซึ่งจะสังเกตเห็นว่าเชื้อ *E. aerogenes* มีความหนาแน่นของการเจริญบริเวณรอบกระดาษซับวงกลมน้อยกว่าบริเวณอื่น

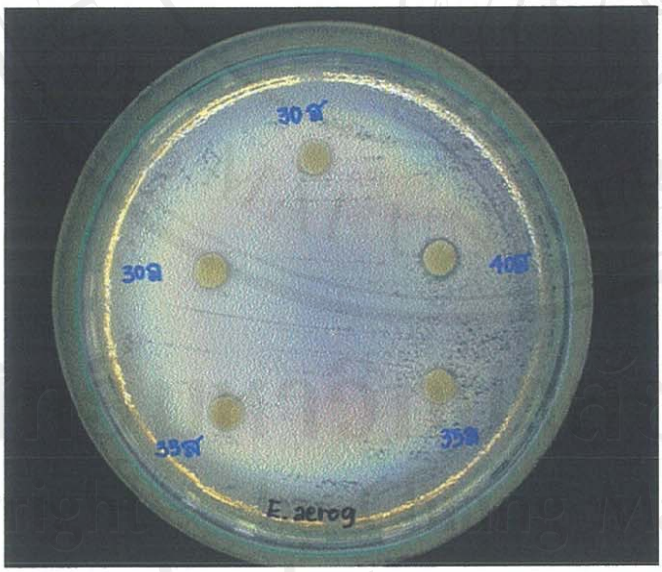
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วนเชื้อ *S. marcescens* สามารถเจริญได้ แต่ไม่สร้างเม็ดสีสีแดง ในน้ำผึ้งสาบเสือที่ระดับความเจือจางร้อยละ 35 และ 40 และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ระดับความเจือจางร้อยละ 40 ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที (ภาพที่ 76) นอกจากนี้ยังพบการเจริญแต่ไม่สร้างเม็ดสีในน้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ระดับความเจือจางร้อยละ 40 ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 71 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที (ภาพที่ 78) การไม่สร้างเม็ดสีสีแดงของเชื้อ *S. marcescens* อาจเกิดขึ้นเนื่องจากมีสภาวะการเจริญที่ไม่เหมาะสม โดยเชื้อจุลินทรีย์ *S. marcescens* จะสร้างเม็ดสีได้เมื่อมีการเจริญอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมเท่านั้น (Beumer, 1999) สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ *P. fluorescens* ไม่พบว่ามีการยับยั้งเกิดขึ้นจากน้ำผึ้งสาบเสือและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านที่ผ่านการให้ความร้อน (ภาพที่ 80-81)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

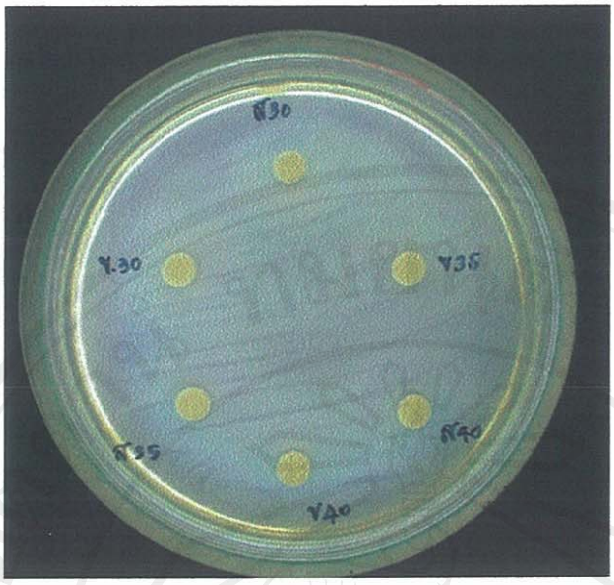


ภาพที่ 72 การทดสอบความสามารถในการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ *E. aerogenes* ด้วยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

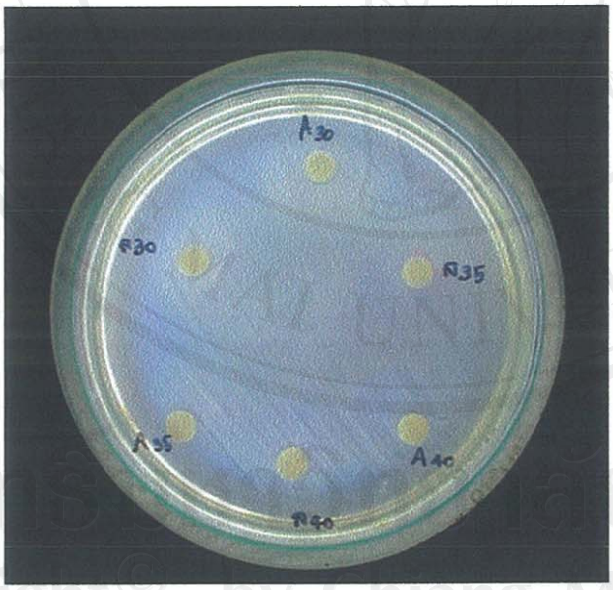


ภาพที่ 73 การทดสอบความสามารถในการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ *E. aerogenes* ด้วยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งลำไย (ล) ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

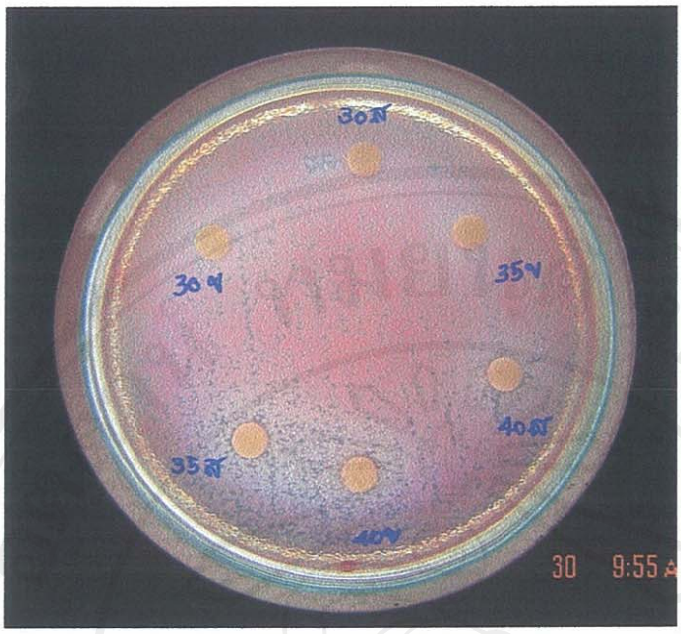


ภาพที่ 74 การทดสอบความสามารถในการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ *E. aerogenes* ด้วยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 71 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที

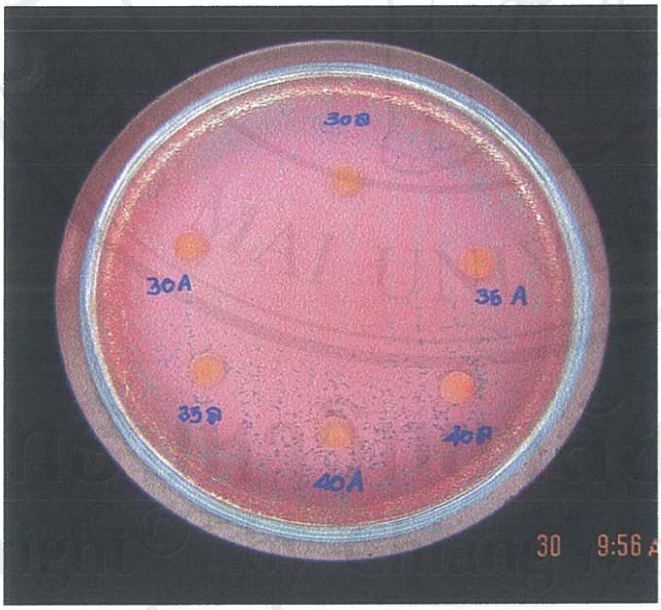


ภาพที่ 75 การทดสอบความสามารถในการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ *E. aerogenes* ด้วยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งเทียม (A) ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 71 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

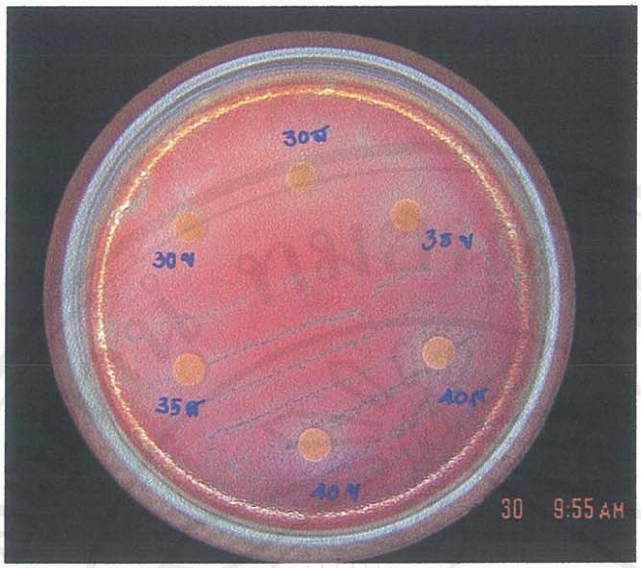


ภาพที่ 76 การทดสอบความสามารถในการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ *S. marcescens* ด้วยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

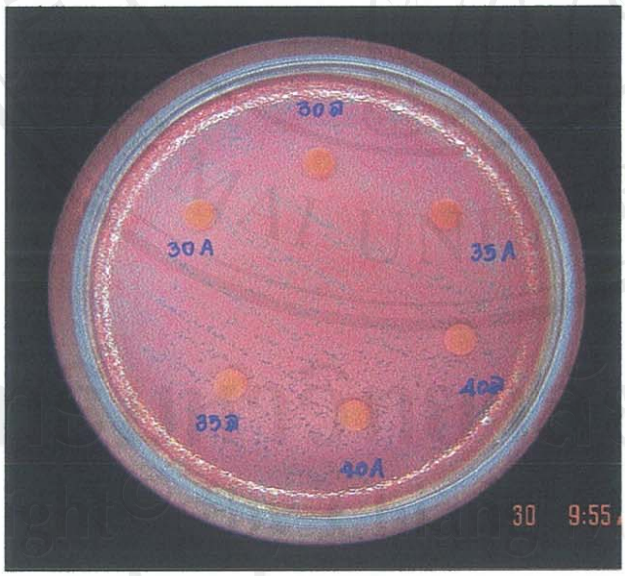


ภาพที่ 77 การทดสอบความสามารถในการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ *S. marcescens* ด้วยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งเทียม (A) ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

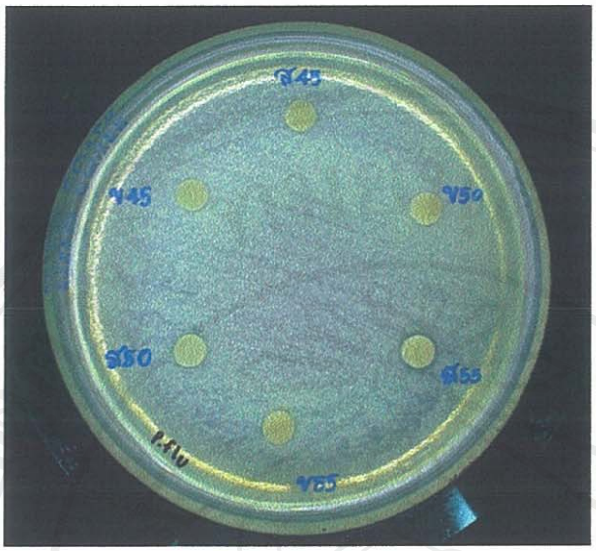


ภาพที่ 78 การทดสอบความสามารถในการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ *S. marcescens* ด้วยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 71 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที

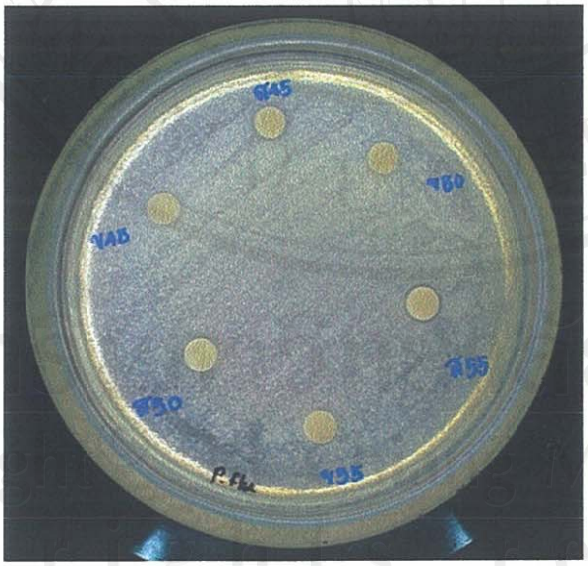


ภาพที่ 79 การทดสอบความสามารถในการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ *S. marcescens* ด้วยน้ำผึ้งลำไย (ล) และน้ำผึ้งเทียม (A) ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 71 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 80 การทดสอบความสามารถในการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ *P. fluorescens* ด้วยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที



ภาพที่ 81 การทดสอบความสามารถในการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์ *P. fluorescens* ด้วยน้ำผึ้งสาบเสือ (ส) และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน (ข) ที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 71 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved