

บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้อง

น้ำผึ้ง เป็นน้ำหวานที่ผึ้งงานดูดจากเกสรดอกไม้ชนิดต่างๆ แล้วนำมาเก็บรวบรวมไว้ในรังผึ้ง โดยน้ำผึ้งจะเป็นของเหลวใส มีลักษณะข้นหนืดและมีรสหวาน สีของน้ำผึ้งผันแปรตั้งแต่ไม่มีสี จนกระทั่งมีสีเข้มเกือบดำ ขึ้นอยู่กับชนิดของดอกไม้ (ลักขณาและนิธิยา, 2544) น้ำผึ้งเป็นของเหลวที่อึดตัวสูงด้วยน้ำตาล โดยมีปริมาณน้ำตาลฟรุกโตสร้อยละ 38.5 มอลโตสร้อยละ 7.2 ซูโครสร้อยละ 1.5 ไตรแซคคาไรด์และคาร์โบไฮเดรตอื่นๆร้อยละ 4.2 และวิตามิน แร่ธาตุและเอนไซม์ร้อยละ 0.5 ปริมาณโปรตีนพบในน้ำผึ้งน้อยมากคือร้อยละ 0.3 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ในช่วง 3.4-6.1 หรือเฉลี่ยเท่ากับเท่ากับ 3.9 ปริมาณกรดทั้งหมดอยู่ในช่วงร้อยละ 0.17-1.17 หรือเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 0.57 (USDA, 1985) และหากเก็บน้ำผึ้งไว้ในที่เย็นจะทำให้น้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบของน้ำผึ้งตกผลึกได้ การตกผลึกของน้ำผึ้งขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของน้ำตาลต่อน้ำ ถ้าอัตราส่วนของน้ำตาลกลูโคสต่อน้ำ เป็น 2:1 หรือมากกว่าจะตกผลึกได้ง่าย แต่ถ้าน้ำผึ้งมีอัตราส่วนของน้ำตาลกลูโคสต่อน้ำ เป็น 1.7:1 หรือน้อยกว่า น้ำผึ้งจะเป็นของเหลวและไม่ตกผลึก (ลักขณาและนิธิยา, 2544)

2.1 ชนิดของผึ้ง

ผึ้งมีอยู่หลายชนิดด้วยกัน และแต่ละประเทศก็มีพันธุ์ผึ้งที่แตกต่างกัน ในประเทศไทยมีผึ้งอยู่ 4 ชนิด คือ ผึ้งหลวง ผึ้งโพรง ผึ้งมัม และผึ้งพันธุ์ (สิริวัฒน์, 2532) ดังต่อไปนี้

2.1.1 ผึ้งหลวง

ผึ้งหลวง เป็นผึ้งที่มีขนาดหัวโตมาก ชอบทำรังอยู่บนต้นไม้สูง เช่น ต้นยาง ต้นตะเคียน หรือหากไม่ทำรังบนต้นไม้ ก็ทำรังบนหน้าผาสูง ผึ้งหลวงจะดุร้าย ผู้ใดที่ถูกผึ้งหลวงต่อยอาจเป็นไข้หรือเสียชีวิตได้ ผึ้งหลวงบินไปได้ไกล หากินเก่ง จึงผลิตน้ำผึ้งได้มาก น้ำผึ้งที่ได้จากผึ้งหลวงเป็นน้ำผึ้งที่มีคุณภาพสูง รสเข้มข้น

2.1.2 ผึ้งโพรงหรือผึ้งรวง

เป็นผึ้งขนาดกลาง ชอบทำรังอยู่ในโพรงไม้หรือโพรงหิน เป็นผึ้งที่มีอยู่ทั่วไปในประเทศไทย และพบมากในจังหวัดในภาคใต้

2.1.3 ผึ้งมีม

เป็นผึ้งที่มีขนาดเล็กเท่าแมลงวัน ไม่ดุร้าย ชอบทำรังตามพุ่มไม้เตี้ยๆ ผึ้งชนิดนี้มีมากในภาคกลาง น้ำผึ้งที่ได้จากผึ้งมีมจะใสและมีรสหวานแหลม

2.1.4 ผึ้งพันธุ์

ผึ้งพันธุ์เป็นผึ้งเลี้ยง เนื่องจากความต้องการในการบริโภคน้ำผึ้งมีมากขึ้น และน้ำผึ้งจากผึ้งป่าตามธรรมชาติจึงมีจำนวนไม่เพียงพอต่อการบริโภค ต่อมาได้มีการส่งเสริมการเลี้ยงผึ้งอย่างจริงจังทางภาคเหนือ เพราะมีแหล่งเกษตรกรรมที่เหมาะสม แต่ผึ้งหลวงและผึ้งมีมมีธรรมชาติเป็นผึ้งป่า ไม่เหมาะกับการนำมาเพาะเลี้ยง ส่วนผึ้งโพรงแม้จะสามารถเลี้ยงได้ แต่ก็ไม่ดีเท่าผึ้งพันธุ์ (สิริวัฒน์, 2532) ประกอบกับปัจจุบันมีการส่งเสริมให้เลี้ยงผึ้งเพื่อผลิตน้ำผึ้งจำหน่าย และตลาดของน้ำผึ้งในประเทศไทย ยังมีการขยายตัวได้สูง เนื่องจากมีดอกไม้หลายชนิดที่จะให้น้ำหวานแก่ผึ้ง โดยการเลี้ยงผึ้งในประเทศไทยนั้นมีอยู่ 2 ชนิดด้วยกัน คือการเลี้ยงผึ้งโพรง ซึ่งเป็นผึ้งพื้นเมืองที่มีอยู่ทั่วไปในประเทศไทย แต่เนื่องจากผลผลิตน้ำผึ้งของผึ้งโพรง มีปริมาณไม่มากนัก ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด (จิ๋ว, 2546) จึงมีการนำผึ้งพันธุ์มาจากหลายประเทศ เช่น ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา เนื่องจากผึ้งพันธุ์มีลักษณะดีหลายประการคือ ตัวใหญ่ แข็งแรง ขยัน มีความสามารถในการบินไปหาอาหารได้ดีกว่าผึ้งไทย มีจำนวนประชากรในรังมากกว่า ลักษณะนิสัยไม่ดุร้าย ดูแลและเลี้ยงง่าย (สิริวัฒน์, 2532)

2.2 สังคมของผึ้ง

ในสังคมผึ้งจะแบ่งผึ้งเป็น 3 กลุ่ม (สิริวัฒน์, 2532) ได้แก่

2.2.1. ผีนางพญา

ผีนางพญา เป็นผีที่มีอยู่เพียงตัวเดียวในวัง ซึ่งมีอำนาจสูงสุด ปกครองประชากรผีนับแสนตัว มีหน้าที่สำคัญคือ ดูแลประชากรผีและวางไข่

2.2.2. ผีตัวผู้

ผีตัวผู้ เป็นผีที่ไร้พิษสงเพราะไม่มีเหล็กใน มีอายุเฉลี่ยประมาณ 1-2 เดือน หน้าที่หลักคือ ผสมพันธุ์กับนางพญาผี เมื่อผสมพันธุ์เสร็จผีตัวผู้จะตายทันที

2.2.3. ผีงาน

ผีงาน คือผีตัวเมียที่ไม่ได้เจริญเป็นนางพญา ผีงานเป็นประชากรหม่มากในวัง มีหน้าที่ทำงานทุกชนิดในวัง เช่น ดูแลทำความสะอาดรังผี ต่อเติมและซ่อมแซมรัง ป้องกันการบุกรุกจากศัตรู และหาอาหารมาเลี้ยงตัวอ่อน เป็นต้น ผีงานมีอายุเฉลี่ยประมาณ 2-3 เดือน

2.3 การเก็บน้ำหวานของผี

น้ำผึ้งเป็นผลิตผลจากน้ำหวานที่ผีดูดมาจากดอกไม้ และจากแหล่งน้ำหวานอื่นๆ เช่น น้ำหวานที่ผลิตออกมาโดยแมลงจำพวกเพลี้ย การหาน้ำหวานเป็นงานที่หนักที่สุดของผีงาน ซึ่งต้องบินไปไกลกว่า 1 กิโลเมตรเพื่อหาดอกไม้หรือแหล่งน้ำหวาน และอาจบินหาน้ำหวาน 20,000 ถึง 100,000 รอบ จึงจะได้น้ำหวานกลับรังประมาณ 1 ลิตร โดยเมื่อพบแหล่งอาหาร ผีจะดูดน้ำหวานที่มีอยู่ตามโคนกลีบดอกไม้แล้วเก็บไว้ในกระเพาะ และเมื่อน้ำหวานผสมกับน้ำย่อยหรือเอนไซม์ในตัวของผี ก็จะแปรสภาพเป็นน้ำผึ้ง ผีงานยังกวาดเรณูเกสรมาเก็บไว้ในตะกร้าที่ขาทั้งสอง จากนั้นจะบินกลับรังโดยใช้เส้นทางที่ใกล้ที่สุด ในระหว่างที่ผีบินกลับรัง ความร้อนในตัวผีที่เกิดจากการกระพือปีกขณะบิน 11,400 ครั้งต่อนาที จะทำให้ส่วนที่เป็นน้ำระเหยไป ปริมาณความชื้นลดลง ทำให้น้ำผึ้งมีความเข้มข้น เมื่อถึงรังผี ก็จะคายน้ำหวานแปรรูปนี้แบบปากต่อปากให้กับผีงานประจำรังกลับไปเก็บในหลอดรวงน้ำผึ้ง ถ้าหากขณะบินกลับรังผี ยังมีการแปรสภาพจากน้ำหวานเป็นน้ำผึ้งไม่ได้ความเข้มข้นพอ ผีงานที่รับขบวนน้ำหวานมาก็จะทำหน้าที่ย่อยต่อ หากความชื้นยังสูงเกิน เหล่าผีงานก็จะช่วยกันกระพือปีกเพื่อระบายอากาศและขับไล่ความชื้น จนกว่า

จะได้นำผึ้งตามที่ต้องการแล้วนำไปเก็บในหลอดรวงน้ำผึ้ง โดยใช้ไขผึ้งปิดปากรวง แล้วเก็บน้ำผึ้งไว้ใช้เป็นอาหาร การเก็บรังผึ้งที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ส่วนใหญ่มักจะใช้คบไฟไล่ตัวผึ้งออกไปแล้วนำรังผึ้งมาคั้น ซึ่งก็จะได้น้ำผึ้ง รวมถึงตัวผึ้งอ่อน และเกสรดอกไม้ปนมาด้วย แต่น้ำผึ้งที่ได้จากผึ้งที่เลี้ยงไว้ จะมีกรรมวิธีการแยกตัวอ่อนออกไปก่อน ทำให้น้ำผึ้งสะอาด และเก็บได้นานกว่าวิธีดั้งเดิม (สิริวัฒน์, 2532)

2.4 ลักษณะของน้ำผึ้งที่ดี

น้ำผึ้งที่ดีจะต้องมีลักษณะขุ่นหนืด มีความใสหรือโปร่งแสง สะอาด ไม่มีตะกอน หรือสิ่งเจือปน ไม่มีไขผึ้ง ไม่มีฟอง ไม่มีกลิ่นบูดเปรี้ยว มีกลิ่นหอมเฉพาะเกสรดอกไม้ที่ผึ้งไปดูดน้ำหวานมา เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบเกสรดอกไม้ปนอยู่หลายชนิด ควรผ่านกรรมวิธีการเก็บจากรังอย่างถูกต้อง มีกระบวนการเก็บที่สะอาด ปราศจากกากและสิ่งเจือปนต่างๆ สีของน้ำผึ้งจะมีระดับแตกต่างกันระหว่างสีเหลืองอ่อนใส น้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลไหม้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเกสรดอกไม้ที่ผึ้งไปดูดน้ำหวานมา (หลวงบุเรศรบารุงการ, 2528) สีของน้ำผึ้ง จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณแร่ธาตุในน้ำผึ้ง น้ำผึ้งที่มีสีอ่อน จะมีรสชาตินุ่มนวล และน้ำผึ้งที่มีสีเข้มจะให้รสหวานจัด (The National Honey Board, 1985) เช่น น้ำผึ้งที่ได้จากดอกกล้วยจะมีสีเข้มกว่าน้ำผึ้งที่ได้จากดอกลินจี่ ดอกเงาะ และดอกทุเรียน ซึ่งน้ำหวานที่ได้จากดอกไม้แต่ละชนิดนี้จะมีสี กลิ่นและรสชาติแตกต่างกันไป รวมถึงองค์ประกอบและโครงสร้างของน้ำตาลก็แตกต่างกันด้วย (ลักษณะและนิเวศวิทยา, 2544) โดยน้ำผึ้งที่ได้จากเกสรดอกไม้จากแหล่งต่างๆกันจะมีสมบัติทางเคมีที่แตกต่างกัน

2.5 สมบัติทางเคมีของน้ำผึ้ง

น้ำผึ้งแต่ละชนิดจะมีสมบัติทางเคมีที่แตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิดของดอกไม้ที่ให้ น้ำหวาน ฤดูกาลเก็บเกี่ยว และสภาพแวดล้อมของบริเวณที่เลี้ยงผึ้ง (Mizrahi, 1997)

ตารางที่ 1 สมบัติทางเคมีของน้ำผึ้ง

สมบัติทางเคมี	ปริมาณ (ร้อยละ)
ความชื้น	15.7-26.7
เถ้า	0.04-0.93
ไนโตรเจน	0.05-0.38
น้ำตาลรีดิวซิง	85.0-94.9
กรดอิสระ	12.9-58.0
ค่าความเป็นกรดต่าง	3.6-5.6

ที่มา : ลักษณะและนิเวศวิทยา, 2544

การคัดเกรดน้ำผึ้งจะดูที่ความชื้นของน้ำผึ้ง ถ้าน้ำผึ้งมีความชื้น หรือน้ำปนอยู่น้อยกว่าร้อยละ 21 แสดงว่าอยู่ในเกรดดี แต่ถ้ามีความชื้นมากกว่านี้คุณภาพของน้ำผึ้งก็จะลดลง อย่างไรก็ตามราคาของน้ำผึ้ง ไม่ได้ขึ้นอยู่กับความชื้นเท่านั้น แต่ยังขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำผึ้งว่ามาจากดอกไม้ และจากผึ้งชนิดใด รวมถึงฤดูกาลเก็บน้ำผึ้งด้วย มีความเชื่อว่า น้ำผึ้งที่ดีที่สุด คือ น้ำผึ้งที่ได้จากผึ้งหลวง และต้องเป็นน้ำผึ้งเดือน 5 ด้วยเหตุผลที่ว่า เดือน 5 เป็นหน้าแล้งซึ่งผึ้งยังไม่ตก และเป็นช่วงที่ดอกไม้บานนานชนิดกำลังบาน น้ำผึ้งที่ได้จึงเป็นน้ำผึ้งคุณภาพดี เพราะมีความชื้นน้อย มีความเข้มข้นมาก แต่ปัจจุบันส่วนใหญ่จะเป็นน้ำผึ้งจากผึ้งที่เลี้ยงไว้ ไม่ใช่ผึ้งป่าตามธรรมชาติ ซึ่งบ้างก็ว่าคุณภาพสู้น้ำผึ้งจากผึ้งหลวงไม่ได้ โดยทั่วไปน้ำผึ้งจะเก็บได้นานประมาณหนึ่งปีครึ่ง หากเก็บไว้นานกว่านี้ สี กลิ่น รส ก็เปลี่ยนแปลงไป ที่เห็นชัด คือ น้ำผึ้งจะมีสีน้ำตาลเข้ม (หลวงบุเรศบำรุงการ, 2528) United States Department of Agriculture (1985) ได้วางเกณฑ์มาตรฐานของน้ำผึ้ง ซึ่งขึ้นอยู่กับปริมาณของแข็งและความชื้นไว้ ดังแสดงในตารางที่ 2 ทั้งนี้ กลิ่น รสชาติ ความใส สารระเหย รวมทั้งการปนเปื้อนของสิ่งแปลกปลอม ก็จะถูกนำมาพิจารณาในการให้เกรดน้ำผึ้งเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ น้ำผึ้งที่มีความชื้นสูงยังมีผลต่อการเสื่อมเสียของน้ำผึ้งอีกด้วย

ตารางที่ 2 การจัดเกรดของน้ำผึ้งตามปริมาณของแข็งและความชื้น

เกรดของน้ำผึ้ง	ปริมาณของแข็งต่ำสุด (ร้อยละ)	ปริมาณความชื้นสูงสุด (ร้อยละ)
เกรด A	81.4	18.6
เกรด B	81.4	18.6
เกรด C	80.0	20.0

ที่มา : The National Honey Board, 1985

2.5 การเสื่อมเสียของน้ำผึ้ง

น้ำผึ้งเป็นของเหลวที่อิมัลชันด้วยน้ำตาล จึงไม่ค่อยเกิดปัญหาเรื่องการเสื่อมเสีย แต่ก็อาจเกิดการเสียได้โดยยีสต์ที่ทนต่อแรงดันออสโมติกสูงๆ คือ ออสโมฟิลลิก ยีสต์ (osmophilic yeast) ซึ่งเป็นยีสต์ที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีค่าน้ำอิสระ (a_w) ต่ำ จึงสามารถทำให้เกิดกระบวนการหมักในน้ำผึ้งที่มีความชื้นสูงกว่าร้อยละ 17.1 และเก็บไว้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 11 องศาเซลเซียส ดังนั้น หลังจากเก็บน้ำผึ้งแล้วก็อาจนำมาผ่านการให้ความร้อน ซึ่งโดยทั่วไปจะให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 77 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำมาทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส ซึ่งทำให้น้ำผึ้งเสียคุณค่าไปกับความร้อน จึงอาจเลือกใช้การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที การให้ความร้อน นอกจากจะทำลายจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์แล้ว ยังสามารถลดการตกผลึกได้อีกด้วย นอกจากออสโมฟิลิกยีสต์แล้ว ยังไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญอย่างปกติในน้ำผึ้ง จะพบเพียงสปอร์ของแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้น (The National Honey Board, 1985)

2.6 องค์ประกอบและปริมาณสารอาหารในน้ำผึ้ง

น้ำผึ้งมีองค์ประกอบหลักเป็นสารให้ความหวานซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ ฟรุกโตส และกลูโคส รองลงมาคือน้ำและน้ำตาลซูโครส ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงองค์ประกอบโดยประมาณของน้ำผึ้ง

องค์ประกอบ	ปริมาณโดยเฉลี่ย(ร้อยละ)
น้ำตาลฟรุกโตส	38.5
น้ำตาลกลูโคส	31.0
น้ำ	17.1
น้ำตาลมอลโตส	7.2
น้ำตาลโมเลกุลสามและคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ	4.2
น้ำตาลกลูโคส	1.5
แร่ธาตุ วิตามิน และเอนไซม์	0.5

ที่มา : The National Honey Board, 1985

น้ำผึ้งยังมีสารอาหารอีกหลายชนิด โดยในน้ำผึ้ง 1 ช้อนโต๊ะ (15 มิลลิลิตร) มีปริมาณสารอาหารโดยเฉลี่ยดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ปริมาณสารอาหารในน้ำผึ้ง 1 ช้อนโต๊ะ (15 มิลลิลิตร หรือ 21 กรัม)

สารอาหาร	ปริมาณโดยเฉลี่ย
น้ำ	3.62 กรัม
พลังงาน	64 แคลอรี
คาร์โบไฮเดรต(โดยรวม)	17.64 กรัม
- ฟรุกโตส	8.16 กรัม
- กลูโคส	6.57 กรัม
- มอลโตส	1.53 กรัม
- ซูโครส	0.32 กรัม
- อื่นๆ	0.88 กรัม
ใยอาหาร	0.04 กรัม
ไขมัน	0.00 กรัม
โปรตีน	0.06 กรัม
วิตามิน	
- ไบโอฟลาวิน	0.01 มิลลิกรัม

ตารางที่ 4 (ต่อ) ปริมาณสารอาหารในน้ำผึ้ง 1 ข้อนโต๊ะ (15 มิลลิลิตร หรือ 21 กรัม)

สารอาหาร	ปริมาณโดยเฉลี่ย
วิตามิน	
- ไนอาซิน	0.03 มิลลิกรัม
- กรดเพนทาโทเทนิค	0.01 มิลลิกรัม
- บี 6	0.01 มิลลิกรัม
- โฟเลต	0.42 ไมโครกรัม
- ซี	0.11 มิลลิกรัม
เกลือแร่	
- แคลเซียม	1.27 มิลลิกรัม
- ฟอสฟอรัส	0.85 มิลลิกรัม
- โซเดียม	0.85 มิลลิกรัม
- โพแทสเซียม	1.02 มิลลิกรัม
- เหล็ก	0.09 มิลลิกรัม
- สังกะสี	0.05 มิลลิกรัม
- แมกนีเซียม	0.42 มิลลิกรัม
- ซิลิเนียม	0.17 มิลลิกรัม
- ทองแดง	0.01 มิลลิกรัม
- แมงกานีส	0.02 มิลลิกรัม

ที่มา : The National Honey Board, 1985

2.7 เอนไซม์ในน้ำผึ้ง

นอกจากองค์ประกอบในน้ำผึ้งซึ่งเป็นสารอาหารแล้ว ในน้ำผึ้งยังมีเอนไซม์อีกหลายชนิด ซึ่งมีหน้าที่แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 5

All rights reserved

ตารางที่ 5 ชนิดและหน้าที่ของเอนไซม์ที่พบในน้ำผึ้ง

เอนไซม์	หน้าที่
อินเวอร์เทส (invertase)	เปลี่ยนน้ำตาลซูโครสให้เป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส
อะไมเลส (amylase) หรือ ไดแอสเทส (diastase)	ย่อยแป้งให้เป็นเดกตริน หรือน้ำตาล
กลูโคส ออกซิเดส (glucose oxidase)	เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็นกลูโคโนแลคโตน และ กรดกลูโคนิก และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
คะตะเลส (catalase)	เปลี่ยนเปอร์ออกไซด์ให้เป็น น้ำและออกซิเจน

ที่มา : The National Honey Board, 1985

ทั้งนี้องค์ประกอบในน้ำผึ้งจะแตกต่างกันไปตามแหล่งของน้ำหวาน ฤดูกาลเก็บน้ำผึ้ง และสภาพแวดล้อม ปัจจัยเหล่านี้มีผลให้น้ำผึ้งมีองค์ประกอบที่แตกต่างกันไป และยังมีผลต่อสมบัติทางกายภาพของน้ำผึ้งอีกด้วย

2.8 สมบัติทางกายภาพของน้ำผึ้ง

2.8.1 สมบัติด้านการไหล

น้ำผึ้งโดยส่วนใหญ่จะมีสมบัติการไหลแบบ Newtonian แต่ก็ยังมีบางชนิดที่มีสมบัติการไหลแบบ thixotropic เช่นน้ำผึ้ง heather และน้ำผึ้ง manuka จากประเทศนิวซีแลนด์ โดยปริมาณโปรตีน และน้ำหนักโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรต จะมีผลต่อสมบัติการไหล (The National Honey Board, 1985)

2.8.2 ความตึงจำเพาะ

น้ำผึ้งมีค่าความตึงจำเพาะซึ่งจะขึ้นอยู่กับปริมาณความชื้นดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ความถ่วงจำเพาะโดยเฉลี่ยของน้ำผึ้งที่มีความชื้นแตกต่างกัน

ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)	ค่าความถ่วงจำเพาะที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส
15	1.4350
18	1.4171

ที่มา : The National Honey Board, 1985

ซึ่งปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้องได้แก่ แหล่งของน้ำหวาน ดังนั้นน้ำผึ้งที่ได้จากแหล่ง หรือชุดการผลิตที่ต่างกัน จึงควรต้องนำมาผสมให้เข้ากันก่อนเพื่อป้องกันการแยกชั้น (The National Honey Board, 1985)

2.8.3 ค่าการนำความร้อนและความร้อนจำเพาะ

ค่าความร้อนจำเพาะของน้ำผึ้งเท่ากับ 0.54-0.60 แคลอรี ต่อกรัม ต่อองศาเซลเซียสและค่าการนำความร้อนของน้ำผึ้ง อยู่ในช่วง 118x10.5 ถึง 143x10.5 แคลอรี ต่อเซนติเมตร วินาที องศาเซลเซียส

2.8.4 ความหนืด

ความหนืดของน้ำผึ้งจะขึ้นอยู่กับปริมาณความชื้น อุณหภูมิ และ แหล่งของดอกไม้ที่ให้น้ำหวาน ซึ่งโดยทั่วไปจะอยู่ในเกณฑ์ ดังแสดงในตารางที่ 7-9

ตารางที่ 7 ค่าความหนืดของน้ำผึ้งที่มีปริมาณความชื้นต่างกัน วัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)	ความหนืด (พอยล์)
15.5	138.0
17.1	69.0
18.2	48.1
19.1	34.9
20.2	20.4

ที่มา : The National Honey Board, 1985

ตารางที่ 8 ความหนืดของน้ำผึ้งที่อุณหภูมิต่างๆกันที่มีปริมาณความชื้นร้อยละ 16.1

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความหนืด(พอยส์)
13.7	600.0
29.0	68.4
39.4	21.4
48.1	10.7
71.1	2.6

ที่มา : The National Honey Board, 1985

ตารางที่ 9 ความหนืดของน้ำผึ้งจากดอกไม้ต่างชนิดกัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปริมาณความชื้นร้อยละ 16.1

ชนิดดอกไม้	ความหนืด(พอยส์)
เสจ (sage)	115.0
สวีท โคลเวอร์ (sweet clover)	87.5
ไวท์ โคลเวอร์ (white clover)	94.0

ที่มา : The National Honey Board, 1985

2.9 การนำน้ำผึ้งมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

น้ำผึ้งเป็นสัญลักษณ์ที่ดีของอาหารเพื่อสุขภาพ (Mizrahi, 1997) การเติมน้ำผึ้งลงในผลิตภัณฑ์อาหารจึงเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์นั้นๆ ซึ่งนอกจากนี้ น้ำผึ้งยังช่วยเพิ่มลักษณะที่ดีของอาหารได้หลายลักษณะ ในหลายผลิตภัณฑ์อาหาร ดังแสดงในตารางที่ 10

2.10 ข้อควรระวังในการบริโภคน้ำผึ้ง

แม้จะพบว่าน้ำผึ้งไม่มีเซลล์จุลินทรีย์ที่มีชีวิตอาศัยอยู่ แต่ก็เคยพบว่าสปอร์ของจุลินทรีย์ *Clostridium botulinum* รอดอยู่ได้ในน้ำผึ้งและ สามารถเจริญและสร้างสารพิษได้ในลำไส้เด็กที่อายุต่ำกว่า 1 ปี เนื่องจากจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ (intestinal microflora) ของเด็กอายุต่ำกว่า 1 ปีนั้นยังไม่เจริญเต็มที่พอที่จะป้องกันการเจริญของเชื้อ *C. botulinum* ได้ ซึ่งเด็กที่อายุมากกว่า 1 ปี ก็สามารถรับสปอร์ของเชื้อดังกล่าวเข้าไปในร่างกายได้โดยไม่เกิดอันตราย The National

Honey Board สหรัฐอเมริกา (2001) จึงได้ประกาศเตือนว่าห้ามให้เด็กที่อายุต่ำกว่า 1 ปี
รับประทานน้ำผึ้ง สปอร์ของเชื้อชนิดนี้พบทั่วไปในอากาศ ผุนละออง ดิน และผลผลิตทาง
การเกษตรที่ยังไม่ได้แปรรูป ซึ่งมีโอกาสปนเปื้อนอยู่ในน้ำผึ้งได้เช่นเดียวกัน (Julie , 2001)



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ตารางที่ 10 การประยุกต์ใช้น้ำผึ้งในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ

การประยุกต์ใช้น้ำผึ้ง	ผลิตภัณฑ์								
	เบเกอรี่	เครื่องดื่ม	ธัญพืช	ขนมเคลือบน้ำตาล	นม	เนื้อ	ซอส	ขนมขบเคี้ยว	ใช้ทาบนอาหาร
รักษาความชื้น	●					●			
สมบัติต้านออกซิเดชั่น						●			
เพิ่มการจับตัวกัน			●					●	
ทำให้ใส		●							
ลักษณะด้านสี	●	●	●			●	●	●	●
ลดลักษณะที่เกิดจากการไหม้					●		●	●	
ช่วยการเจริญของเชื้อโปรไบโอติก									
เพิ่มสีน้ำตาล	●		●			●		●	
เพิ่มอายุผลิตภัณฑ์ / ลดการเหม็นอับ	●		●					●	
ช่วยในกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ			●	●			●	●	
เพิ่มกลิ่นและรสชาติ	●	●	●	●	●	●	●	●	●
เพิ่มลักษณะของผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ	●	●	●	●	●	●	●	●	●
เพิ่มรสชาติให้กับผลิตภัณฑ์ลดไขมัน	●					●			●
ลดจุดเยือกแข็ง									
เพิ่มลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดี	●			●					●
เพิ่มกลิ่นรสที่ดี							●	●	●

ที่มา : The National Honey Board, 1985

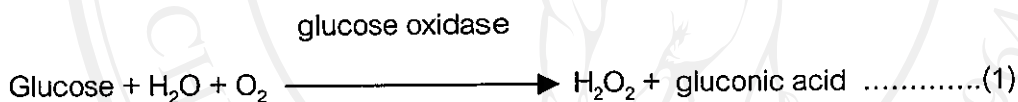
2.11 สมบัติการต้านจุลินทรีย์ในน้ำผึ้ง

2.11.1 ปัจจัยที่มีผลในการต้านจุลินทรีย์ของน้ำผึ้ง

สมบัติการต้านจุลินทรีย์ของน้ำผึ้ง ถูกค้นพบครั้งแรกในปี 1892 (Van,1892) ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสมบัติการต้านจุลินทรีย์มีดังนี้

2.11.1.1 ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์

ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่พบในน้ำผึ้ง เป็นสารที่ผลิตโดยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส เอนไซม์ชนิดนี้หลั่งจากต่อม hypopharyngeal ของผึ้ง ไปยังน้ำหวานเพื่อช่วยในการย่อยให้เป็นน้ำผึ้ง การผลิตไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และกรดกลูโคนิก แสดงในสมการที่ 1 (Molan, 1992)



ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และกรด กลูโคนิก ถูกสร้างขึ้นเพื่อป้องกันการเสียของน้ำผึ้งในระหว่างการสะสมน้ำผึ้ง น้ำผึ้งที่มีความเข้มข้นเต็มที่แล้ว มักจะพบปริมาณไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์น้อยมากเนื่องจากสารดังกล่าวสลายตัวได้ง่าย โดยมีโลหะและวิตามินซี เป็นสารเร่งการสลายให้เป็นออกซิเจนและน้ำ (White *et al.*,1963; Dustmann, 1979) สภาพความเป็นกรดของน้ำผึ้ง ทำให้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสไม่สามารถทำงานได้ในน้ำผึ้งที่มีความเข้มข้นปกติ แต่เมื่อเจือจางน้ำผึ้งลงทำให้ความเป็นกรดลดลง เอนไซม์จึงทำงานสร้างไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ขึ้น (Molan, 1996)

Somal *et al.*(1994) ได้ศึกษาผลจากน้ำผึ้งในการยับยั้งจุลินทรีย์ *Helicobacter pylori* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้เกิดอาการอาหารไม่ย่อย และลำไส้อักเสบ โดยแยกจุลินทรีย์ดังกล่าวมาจากระบบทางเดินอาหาร พบว่า น้ำผึ้ง Manuka จากประเทศนิวซีแลนด์ สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดนี้ได้ ที่ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง Manuka ต่ำที่สุดร้อยละ 5 (โดยปริมาตร) จากการทดสอบโดยวิธี agar well diffusion assay แต่ไม่พบการยับยั้งที่ความเข้มข้นร้อยละ 40 (โดยปริมาตร) เนื่องจาก

จากเชื้อจางน้ำผึ้งให้ความเข้มข้นสูงเกินกว่าที่เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสจะทำงานได้เหมาะสม การสร้างสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์จึงออกมาในปริมาณที่น้อย

สถาบัน New Zealand Beekeeper (1997) ได้นำน้ำผึ้งจากดอกไม้ 179 ชนิดในประเทศนิวซีแลนด์ มาศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* และเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes* ได้จากการทดสอบโดยวิธี agar well diffusion assay โดยสมบัติการยับยั้งของน้ำผึ้งจะแตกต่างกันไปตามชนิดของแหล่งดอกไม้ และยับยั้งเชื้อแต่ละชนิดได้ที่ความเจือจางของน้ำผึ้งไม่เท่ากัน

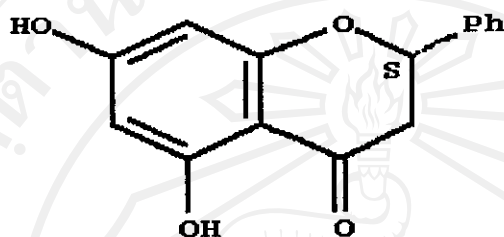
Allen and Molan (1997) จึงได้นำน้ำผึ้งมาศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคเดินมอักษะ พบว่าสามารถยับยั้งได้อย่างดี จากสมบัติการยับยั้งด้วยไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ โดยใช้ น้ำผึ้ง Manuka จากประเทศนิวซีแลนด์ ที่ความเข้มข้น ร้อยละ 5 และ 10 โดยปริมาตร ซึ่งต่อมา เมื่อทำการทดลองในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าน้ำผึ้ง Manuka ยังมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา methicillin (Cooper et al., 1999; Natarajan et al., 2001)

Geredew et al.(2004) ได้นำน้ำผึ้งจากผึ้งพันธุ์ที่ไม่มีเหล็กไน (stringless bee *Trigona* spp.) จากแหล่งที่แตกต่างกันในประเทศอินโดนีเซีย ทดสอบการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในสารละลายน้ำผึ้ง โดยใช้วิธี Microcalorimetric พบว่า น้ำผึ้งที่ระดับความเจือจางของน้ำผึ้ง : ตัวทำละลายเท่ากับ 1 : 10 สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ได้มากที่สุด ประมาณ 1 log cfu ต่อมิลลิลิตร และที่ระดับความเจือจาง 1 : 50 พบว่าเชื้อจุลินทรีย์มีอัตราการลดลงน้อยที่สุด

2.11.1.2 ไฟโตเคมีคอล (phytochemical factors)

นอกจากสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ได้กล่าวไปแล้วนั้น น้ำผึ้งยังมีสารที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี คือสารในกลุ่มไฟโตเคมีคอล (phytochemical) เนื่องจากมีความเชื่อว่าไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้งที่เข้มข้นเต็มที่แล้ว จะเหลือปริมาณน้อยเกินกว่าที่จะสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ อีกทั้งสารดังกล่าวยังไวต่อการถูกทำลายด้วยความร้อนและแสงอีกด้วย ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่า สารในกลุ่มไฟโตเคมีคอลจากพืชที่มีในน้ำผึ้ง ได้แก่ สารกลุ่มฟีนอลิก (Bogdanov, 1984) โดยพบว่าสารประกอบฟีนอลิกในมะกอก (green olives) และฮอป (hop) สามารถต้านจุลินทรีย์ได้หลาย

ชนิด (Beumer, 1999) สารฟีนอลิกที่พบในน้ำผึ้งได้แก่ pinocembrin (ภาพที่ 1) chrysin pinobanskin acacetin quercetin และ kaemferol เป็นต้น โดย pinocembrin ให้ผลในการยับยั้ง จุลินทรีย์ได้ดีที่สุด โดยพบว่า น้ำผึ้งที่ถูกให้ความร้อนซึ่งทำลายเอนไซม์และไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ไป แล้ว ยังคงมีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดี (Bogdanov, 1984)



ภาพที่ 1 โครงสร้างของ pinocembrin

ที่มา : <http://www.chemsoc.org/exemplarchem/entries/2001/loveridge/honeyflavonoids.gif>

Aljadi and Yusoff (2002) ได้ศึกษาการยับยั้งที่ไม่เกี่ยวข้องกับสารเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้ง โดยสกัดสารประกอบฟีนอลิกในน้ำผึ้ง โดยใช้สารตัวกลางในการสกัดแตกต่างกัน คือ เอซิล อะซิเตด (ethyl acetate) ไดเอซิล อีเธอร์ (diethyl ether) และ เมธานอลกับน้ำ (methanol-water) แล้วนำสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการสกัดมาทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา Methicillin และนำ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ที่ไม่ดื้อยา Methicillin มาทดสอบโดยวิธี disc diffusion assay และ broth dilution พบว่าผลในการยับยั้งเกิดได้ดีที่ปริมาณสารสกัด 1.30 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรขึ้นไป โดยสารที่สกัดจากไดเอซิล อีเธอร์ ให้ผลยับยั้งดีที่สุด และเชื้อ *Escherichia coli* ไวต่อการยับยั้งมากที่สุด

Brady *et al.* (1996) ได้ศึกษาผลของสารที่ไม่ใช่ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้ง Manuka และ น้ำผึ้ง Pasture และใช้เอนไซม์อะตาเลสสลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ เพื่อทดสอบสารที่ไม่ใช่ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้ง Manuka แล้วนำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคบนผิวหนัง โดยวิธี agar well diffusion ผลการทดสอบพบว่า น้ำผึ้งทั้งสองชนิด สามารถยับยั้งเชื้อรา *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *mentagrophytes*,

Trichophyton rubrum และ *Trichophyton tonsurans* ได้ ที่ความเข้มข้นของน้ำผึ้งต่ำที่สุดคือ ร้อยละ 5 (โดยปริมาตร) การยับยั้งพบทั้งน้ำผึ้งที่มีและไม่มีสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ โดยน้ำผึ้งที่ไม่มีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ต้องใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่าน้ำผึ้งที่มีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในการยับยั้งเชื้อรา

Mundo *et al.* (2004) ได้ศึกษาพบว่า สารที่ไม่ใช่ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในน้ำผึ้ง สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Micrococcus luteus* ซึ่งค่าการยับยั้งมีความสัมพันธ์กับความเป็นกรด ในน้ำผึ้ง โดยจากการแยกสารประกอบในน้ำผึ้ง ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี หรือการกลั่นด้วยระบบสุญญากาศ แล้วนำมาทดสอบพบว่า สารที่มีความเป็นกรดสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารที่เป็นเบส สารไม่ระเหย และสารระเหยตามลำดับ นอกจากนี้ยังได้มีการทดสอบน้ำผึ้ง 26 ชนิดจากแหล่งแตกต่างกันไปตามภูมิภาคในประเทศสหรัฐอเมริกา มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย 7 ชนิด โดยวิธี overlay inhibition assay พบว่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* ไวต่อการถูกยับยั้งด้วยน้ำผึ้งมากที่สุด และเชื้อที่ทนความร้อนอย่าง *Bacillus stearothermophilus* ก็ถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ และผลการศึกษายังแสดงให้เห็นว่า เชื้อ *Alcaligenes faecalis* และ *Lactobacillus acidophilus* ถูกยับยั้งได้เมื่อทดสอบด้วยวิธี diffusion assay โดยหลังจากที่ทำลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ด้วยเอนไซม์อะซิโตนแล้ว น้ำผึ้งบางชนิดยังคงเหลือสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ ทั้งนี้ น้ำผึ้งแต่ละชนิดสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ที่ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง และชนิดจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน และไม่สามารถยับยั้งเชื้อราได้

2.11.1.3 แรงดันออสโมติก

นอกจากปัจจัยด้านสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และสารประกอบฟีนอลิกในน้ำผึ้งที่มีผลในการต้านจุลินทรีย์แล้ว น้ำผึ้งก็ยังมีสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์เนื่องจากแรงดันออสโมติก เนื่องจากน้ำผึ้งเป็นของเหลวที่อิมิตัวไปด้วยน้ำตาลสูงถึง ร้อยละ 84 โดยประกอบด้วยน้ำตาลฟรุกโตส และน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบหลัก และมีน้ำเพียงร้อยละ 15-21 โดยน้ำหนัก ซึ่งมีผลให้มีค่า*a_w* ต่ำ โดยมีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 0.56-0.62 ทำให้จุลินทรีย์โดยทั่วไปไม่สามารถเจริญอยู่ในน้ำผึ้งที่มีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 17.1 ได้ มีเพียงออสโมฟิลิกยีสต์เท่านั้น ที่สามารถเจริญได้ในน้ำผึ้งที่มี

ความชื้นค่อนข้างสูง และแม้ว่าน้ำผึ้งจะถูกนำมาเจือจาง ที่ความเข้มข้นน้อยกว่าร้อยละ 10 ก็ยังคงให้ผลในการยับยั้งได้ดี (Molan, 1996; Bruce, 2001)

2.11.1.4 ความเป็นกรด

สภาวะความเป็นกรดในน้ำผึ้ง ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการยับยั้งจุลินทรีย์ น้ำผึ้งมีสภาวะที่ค่อนข้างเป็นกรด โดยมีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 3.2-4.5 ซึ่งสามารถต้านการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลายชนิด ทั้งนี้ จุลินทรีย์ที่มักพบในบาดแผล ส่วนใหญ่แล้วดำรงชีวิตได้ดีที่ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7.2 ถึง 7.4 ค่าความเป็นกรดต่างต่ำที่สุดที่จุลินทรีย์ที่พบในบาดแผลสามารถเจริญได้ เช่น *Escherichai coli* เท่ากับ 4.3 *Salmonella sp.* เท่ากับ 4.0 และ *Pseudomonas aeruginosa* เท่ากับ 4.5 ดังนั้น น้ำผึ้งที่ไม่ได้เจือจางจึงสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เหล่านี้ได้ดี แม้ว่าเมื่อนำไปใช้ในการรักษาโดยใส่ในบาดแผลแล้ว ของเหลวในร่างกายที่อาจลดความเข้มข้นของน้ำผึ้งก็ทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ที่ดี ค่าความเป็นกรดต่างไม่เปลี่ยนแปลงจึงทำให้น้ำผึ้งยังคงต้านการเจริญของเชื้อได้ดี และนอกจากนี้ยังพบว่า ค่าความเป็นกรดต่างที่ต่ำในน้ำผึ้งจะช่วยให้ น้ำผึ้งมีกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ ความคงทนต่อความร้อนมากกว่าน้ำผึ้งที่มีค่า pH เป็นกลาง (Russell, 1983)

นอกจากปัจจัยที่กล่าวมาแล้วน้ำผึ้งยังมีปริมาณโปรตีนต่ำ และมีสารระเหยชนิดต่างๆที่มาจากเกสรดอกไม้ และเอนไซม์ไลโซไซม์ ไดเอสเทส และอินเวอร์เทส ที่ช่วยในการยับยั้งจุลินทรีย์อีกด้วย (Bogdanov, 1997)

2.11.2 ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของน้ำผึ้ง

จากรายงานทางการแพทย์ ที่ใช้น้ำผึ้งในการบำบัดโรคนั้นพบว่า มีน้ำผึ้งเพียงบางชนิดเท่านั้นที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ผล และน้ำผึ้งที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ มักจะเป็นน้ำผึ้งจากแหล่งภูมิประเทศที่ใกล้เคียงกัน รวมทั้งพบว่าน้ำผึ้งที่ได้จากน้ำหวานของดอกไม้เพียงบางชนิดเท่านั้นที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Bogdanov, 1997)

วงการแพทย์ของประเทศ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ และเบลเยียม ได้มีการนำน้ำผึ้งมาแปรรูปเป็นครีมน้ำผึ้ง (creamed honey) โดยกระบวนการตกผลึก (crystallization) ร่วมกับการทำให้เป็นเม็ด (granulation) เพื่อให้มีความสะดวกในการนำมาใช้ได้ในขนาดแผลโดยตรง โดยนิยมใช้น้ำมารักษาบาดแผลที่เกิดจากความร้อน แผลเปื่อย มีหนอง และแผลติดเชื้อ (The National Honey Board, 1985) ซึ่งปัจจุบันโรงพยาบาลในประเทศ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ และเบลเยียม ได้มีการนำน้ำผึ้งมาใช้ในทางการแพทย์อย่างจริงจัง และโรงพยาบาลรามาริบัติของประเทศไทย ก็เป็นโรงพยาบาลอีกแห่งหนึ่งที่มีการยอมรับว่า น้ำผึ้งสามารถนำมาใช้ในการรักษาแผลผ่าตัดอย่างได้ผลดีกว่าการรักษาด้วยการเย็บแบบเดิม แต่ทั้งนี้ น้ำผึ้งที่จะนำมาใช้ในทางการแพทย์นั้น ต้องมั่นใจว่ามาจากแหล่งที่สะอาด ผ่านการตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ แล้วนำมาผ่านกระบวนการแกมมาเรย์เพื่อให้ น้ำผึ้งมีความปลอดภัยมากขึ้น (www.mahidol.ac.th/mahidol/ra/raog)

2.12 การเสื่อมเสียของอาหารจากเชื้อจุลินทรีย์

การเสื่อมเสียของอาหารเป็นสาเหตุสำคัญ ที่ทำให้ผู้บริโภคปฏิเสธอาหาร เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของกลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัสที่ผิดปกติไป (Schuler *et al.*, 2002; Garbutt, 1997) ซึ่งสาเหตุหลักที่อาหารเกิดการเสื่อมเสียคือการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ (Garbutt, 1997; Forsythe, 2000) ทั้งนี้การปนเปื้อนอาจเกิดขึ้นตั้งแต่ยังเป็นวัตถุดิบ การปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการผลิตอาหาร และการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ (Beumer, 1999) จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้อาหารเสื่อมเสีย มีอยู่หลายชนิด โดยการศึกษาในครั้งนี้ ได้ศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้อาหารเสื่อมเสีย 7 ชนิด ได้แก่ *Serratia marcescens*, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida utilis*

Bacillus cereus

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Bacillaceae ย้อมติดสีแกรมบวก เซลล์เป็นรูปแท่งขนาดใหญ่ มีขนาด 0.5-2.5 x 1.2-10.0 ไมโครเมตร (Hensyl, 1994) สร้างสปอร์ได้ ดำรงชีวิตในสภาวะที่มีออกซิเจน ขนาดโคโลนีหลังจากที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 5 มิลลิเมตร ลักษณะโคโลนีค่อนข้างกลม โดยทั่วไปจะมีสีขาว

เกือบเหลือง (Singleton and Sainsbury, 1981) *B. cereus* จัดเป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในอาหาร และทำให้อาหารเสื่อมเสียด้วย เจริญได้ในอาหารหลายชนิด เช่น เนื้อสัตว์ นม ผัก และปลา แต่อาหารที่มักพบว่าทำให้เกิดโรคส่วนใหญ่คือ อาหารจำพวกแป้ง ธัญพืช มันฝรั่ง พาสต้า ข้าวและเครื่องเทศ (Beumer, 1999) โดย *B. cereus* มีแหล่งที่มาจากดิน (สุมาลี, 2541)

Serratia marcescens

Serratia marcescens เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-0.8 ไมโครเมตร และมีความยาว 0.9-2.0 ไมโครเมตร (Hensyl, 1994) ติดสีแกรมลบ เซลล์เป็นรูปท่อนขนาดสั้น เคลื่อนที่ได้ ไม่สร้างสปอร์ ต้องการอากาศ เจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป เช่น nutrient agar สร้างเม็ดสี (pigment) ชมพูใสจนถึงแดงเมื่อเจริญบนอาหารที่เหมาะสม อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้างเม็ดสีคือ 25 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่ไม่สร้างเม็ดสี หรือสร้างน้อยจนสังเกตเห็นได้ยาก (Singleton and Sainsbury, 1981; Beumer, 1999) สีที่เกิดขึ้นบนอาหารโดยจุลินทรีย์ชนิดนี้ ทำให้อาหารไม่น่ารับประทาน อาหารที่มักพบว่าทำให้เกิดการเสื่อมเสียได้แก่ เนื้อสัตว์ ปลา และอาหารสด (สุมาลี, 2541)

Micrococcus luteus

Micrococcus luteus เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Micrococcaceae มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.2-2.0 ไมโครเมตร (Hensyl, 1994) ติดสีแกรมบวก เซลล์เป็นรูปร่างกลม ไม่เคลื่อนที่ จับกลุ่มกันอย่างไม่เป็นระเบียบ อาจเป็นกลุ่ม หรือ 4 เซลล์ เจริญในสภาวะที่มีอากาศเท่านั้น สร้างเอนไซม์ คตะเลส (catalase) พบทั่วไปในดิน น้ำ และฝุ่น และอาจติดอยู่กับภาชนะบรรจุอาหารได้ (สุมาลี, 2541) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์คือ 1-2 ไมโครเมตร ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 - 72 ชั่วโมง มีลักษณะเป็นวงกลม โคโลนีมีสี ตั้งแต่ เหลืองสว่าง เหลืองเขียว ไปจนถึงส้ม (Singleton and Sainsbury, 1981) เจริญได้ในอาหารที่มีความชื้นต่ำ ค่าน้ำอิสระ (a_w) ต่ำที่สุดที่สามารถเจริญได้คือ 0.90 อาหารที่มักพบว่าทำให้เกิดการเสื่อมเสียได้แก่ ผัก ผลไม้ และเนื้อสัตว์ (สุมาลี, 2541; Beumer, 1999)

Pseudomonas fluorescens

Pseudomonas fluorescens เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Pseudomonadaceae มีรูปร่างเป็นท่อนโค้ง ขนาด 0.5-1.0 x 1.5-5.0 ไมโครเมตร (Hensyl, 1994) ติดสีแกรมลบ เคลื่อนที่ได้ ไม่สร้างสปอร์ สร้างสีเขียวสะท้อนแสงของไพโอเวอดิน (pyoverdine) (สุมาลี, 2541; Beumer, 1999) ลักษณะโคโลนีกลมมน และมีความมันวาว (Singleton & Sainsbury, 1981) ต้องการความชื้นในการเจริญค่อนข้างสูง และถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน ชอบสภาวะที่มีออกซิเจน เจริญได้ดีในอุณหภูมิต่ำ เช่น ในตู้เย็น ย่อยสลายโปรตีนได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจน และสามารถย่อยสลายไขมันได้ (สุมาลี, 2541; Beumer, 1999) ค่าน้ำอิสระ (a_w) ต่ำที่สุดที่สามารถเจริญได้คือ 0.96 *P. fluorescens* เป็นจุลินทรีย์ที่พบโดยทั่วไปในดิน น้ำ และผลิตภัณฑ์สดที่ยังไม่ผ่านการให้ความร้อน มักเป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารสดจำพวกเนื้อสัตว์ ผัก และผลไม้ที่เก็บไว้ในตู้เย็นเสีย (Beumer, 1999)

Enterobacter aerogenes

Enterobacter aerogenes เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae มีขนาด 0.6-1.0 x 1.2-3.0 ไมโครเมตร (Hensyl, 1994) จัดอยู่ในสปีชีส์หลักของกลุ่มโคลิฟอร์ม มีรูปร่างเป็นท่อนตรงสั้นๆ แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ สลายน้ำตาลแลคโทสแล้วให้ก๊าซ และผลิตกรดได้ เกิดอะซิโธอิน แต่ไม่สร้างอินโดล มักพบอยู่บนผิวของผักและผลไม้สด และมักจะสร้างปัญหาในกระบวนการผลิตเนยแข็ง และการแปรรูปน้ำนม (สุมาลี, 2541) เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน แต่ชอบสภาวะที่มีออกซิเจนมากกว่า ค่าน้ำอิสระ (a_w) ต่ำที่สุดที่สามารถเจริญได้คือ 0.95 (Beumer, 1999)

Saccharomyces cerevisiae

Saccharomyces cerevisiae เป็นยีสต์ที่มีบทบาทสำคัญในการอุตสาหกรรม หลายชนิดได้แก่ การผลิตแอลกอฮอล์ เบียร์ ไวน์ และขนมปัง (สุมาลี, 2541) มีขนาด 3.0-8.0 x 5.0 x 10.0 ไมโครเมตร ติดสีแกรมบวก ลักษณะของเซลล์หลังจากการบ่ม 3 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีลักษณะกลม เป็นรูปไข่ หรืออาจยืดยาวออก โคโลนีมีสีครีมอ่อน ผิวหน้าเรียบ และแบน พบเชื้อชนิดนี้ได้ทั้งในดิน น้ำ และบนผิวของผักและผลไม้สด ทำให้อาหารเสื่อมเสียได้โดยกระบวนการหมักน้ำตาลให้

เป็นแอลกอฮอล์ น้ำตาลที่นำไปใช้ในกระบวนการหมักได้ดีคือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) ซูโครส (sucrose) และ ราฟฟิโนส (raffinose) (Kurtzman, 1998) จึงมีผลทำให้เกิดการเสื่อมเสียของอาหารที่มีส่วนประกอบของน้ำตาลสูงเสื่อมเสีย ได้แก่ ผัก ผลไม้แช่แข็ง และน้ำเชื่อมที่มีความเข้มข้นไม่สูงมาก (สุมาลี, 2541)

Candida utilis

Candida utilis เป็นยีสต์ที่ใช้เป็นอาหารได้ และสามารถทำให้เกิดลักษณะที่ไม่ต้องการในอาหารได้ โดยสร้างแผ่นฟิล์มบนผิวหน้าอาหาร (สุมาลี, 2541) *C. utilis* เจริญได้ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรดต่างช่วงกว้าง และเจริญได้ดีในอาหารที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ โคโคไลเป็นสปีครีมอ่อน ลักษณะเซลล์เป็นวงรี หรือรูปไข่ (Sortory et al., 1984) สามารถใช้แอลกอฮอล์เป็นแหล่งคาร์บอนได้ จึงมีบทบาทในการทำให้อาหารที่มีแอลกอฮอล์เสื่อมเสียได้ง่าย *C. utilis* สร้างกรดอินทรีย์ได้หลายชนิด และมักจะสร้างกลิ่นรสที่ผิดปกติขึ้นในอาหารได้ เนื่องจากสามารถสร้างสารประเภท acetaldehyde (Prior et al., 1990)

2.13 การทดสอบความไวในการถูกยับยั้งของจุลินทรีย์

การทดสอบความไวในการถูกยับยั้งของเชื้อจุลินทรีย์สามารถทำได้หลายวิธี โดยมีวิธีหลักอยู่ 2 วิธีด้วยกันคือ วิธีการเจือจาง (dilution method) เป็นการทดสอบหาปริมาณของสารต้านจุลินทรีย์ นิยมใช้ทดสอบเชื้อที่เจริญได้ช้า ใช้ทดสอบเพื่อยืนยันผลของ diffusion method ที่ให้ผลความไวปานกลาง หรือมีการตี้อยา และใช้ทดสอบความไวของเชื้อพวกที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญ (Tortora et al., 1992) วิธีที่สองคือวิธีแพร่ (diffusion method หรือ agar diffusion test) ซึ่งวิธี agar diffusion test เป็นวิธีที่สะดวก และเสียค่าใช้จ่ายน้อย อีกทั้งสามารถตรวจสอบผลได้รวดเร็ว วิธี agar diffusion test อาศัยหลักการที่ว่า เมื่อใส่สารต้านจุลินทรีย์ปริมาณหนึ่งไว้ใน reservoir ซึ่งบรรจุตัวยาที่อยู่ในหรือบน อาหารแข็ง (agar medium) ที่ได้เพาะเชื้อไว้ ภายหลังจากบ่มเพาะที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมของเชื้อแต่ละชนิด สังเกตดูว่ารอบบริเวณ reservoir ที่ตัวยาซึมไปแล้ว นั้น มีบริเวณใส ที่ไม่มีเชื้อเจริญเกิดขึ้นหรือไม่ วัดขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้น โดยขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใสที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อที่ทดสอบ

สำหรับ reservoir ที่ใช้ เมื่อดูจากพื้นผิวบนอาหารแข็ง จะมีลักษณะเป็นวงกลม ซึ่งอาจเป็นหลุมที่เจาะลงในเนื้ออาหาร (well) ด้วยทรงกระบอก (cylinder cup) เม็ดยา (tablet) หรือกระดาษซับวงกลม แต่เนื่องจาก reservoir สามแบบแรก คือ การเจาะหลุมลงในเนื้ออาหาร ด้วยทรงกระบอก และเม็ดยา มีความยุ่งยากในการใช้ และผลที่ได้แปรผันมาก ในปัจจุบันจึงนิยมใช้ reservoir แบบ กระดาษซับวงกลม ซึ่ง เรียกการทดสอบในการใช้ reservoir ชนิดนี้ว่า disc sensitivity test หรือ disc diffusion test (มาลิน, 2540; Ferraro, 2000)

โดยวิธี agar diffusion test สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อทดสอบสารที่สงสัยว่าจะมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ เช่น สารสกัดจากพืช กรณีของสารที่สงสัยว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อรา นิยมใช้วิธี agar diffusion test ในการทดสอบ เพื่อศึกษาสมบัติของสารที่สงสัยว่ามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ การแปลผลในเบื้องต้นดูจากบริเวณใสที่เกิดขึ้น ถ้าเกิดบริเวณใส แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ และหากไม่เกิดแสดงว่าไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (มาลิน, 2541)

2.13.1 ปัจจัยในการทดสอบความไวด้วยสารต้านจุลินทรีย์

ปัจจัยหลายชนิดสามารถส่งผลกระทบต่อขนาดบริเวณใสที่เกิดจากสารต้านจุลินทรีย์ สารที่รบกวนการออกฤทธิ์ หรือการดูดซึมของสารต้านจุลินทรีย์ หรือสารที่ส่งเสริมการเจริญของเชื้อ จะทำให้ขนาดของบริเวณใสลดลงได้ ส่วนสารที่ส่งเสริมการออกฤทธิ์หรือการดูดซึมของสารต้านจุลินทรีย์ หรือสารที่รบกวนการเจริญของเชื้อ ก็จะทำให้บริเวณใสมีขนาดเพิ่มขึ้น ปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบความไวต่อการถูกยับยั้งมีดังนี้ (มาลิน, 2541)

2.13.1.1 ความเข้มข้นสารต้านจุลินทรีย์

โดยปกติแล้วกระดาษซับวงกลม (disc) ที่มีตัวยาปฏิชีวนะ (sensitivity disc) สามารถหาซื้อได้จากแหล่งผู้ผลิตหรือจำหน่ายยาประเภทนั้นๆ โดยจะมีการกำหนดขนาดและความแรงของฤทธิ์ยาไว้อย่างชัดเจน แต่หากต้องการทดสอบกับสารอื่นๆที่มีสมบัติต้านจุลินทรีย์ ก็อาจเตรียมกระดาษซับวงกลมขึ้นเอง โดยทำการเรียงกระดาษซับวงกลมเปล่า (blank disc) ในภาชนะสะอาด แล้วหยดสารต้านจุลินทรีย์ 0.02 มิลลิลิตร ลงตรงกลางของกระดาษ ที่ระยะเวลาให้สารกระจายทั่วแผ่น กระดาษ

ซั้วงกลม เก็บไว้ในภาชนะปิดที่สะอาด ที่อุณหภูมิต่ำ ก่อนการนำไปใช้ ซึ่งความไวในการถูกยับยั้งของเชื้อจุลินทรีย์จะแปรผันไปกับความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ นอกจากนี้ความเข้มข้นของสารที่ใช้ทดสอบแล้ว คุณลักษณะของสารที่ใช้ทดสอบ เช่น น้ำหนักโมเลกุล และความสามารถในการซึมผ่านอาหารเลี้ยงเชื้อ ก็มีผลกระทบต่อขนาดบริเวณสีที่เกิดขึ้นได้เช่นกัน (Tortora *et al.*, 1992)

2.13.1.2 ความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อ (agar medium)

โดยทั่วไปจะกำหนดความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 4 มิลลิเมตร ซึ่งจะไม่กระทบต่อขนาดของบริเวณใสมากนัก การเทอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 25 และ 60 มิลลิลิตรลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 9 และ 15 เซนติเมตร ตามลำดับ จะให้ความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อในจานอาหาร ประมาณ 4 มิลลิเมตร โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่เทไว้แล้ว หากต้องการเก็บไว้ใช้เกิน 5 วัน ควรใส่ในถุงพลาสติก ปิดให้สนิท แล้วเก็บไว้ที่ 4-8 องศาเซลเซียส แต่ไม่ควรเก็บไว้ใช้เกิน 2 อาทิตย์ โดยก่อนใช้ควรให้ผิวหน้าอาหารแห้งเสียก่อน (Tortora *et al.*, 1992)

2.13.1.3 ระยะเวลาในการวางกระดาษซั้วงกลมที่ใช้สำหรับทดสอบ

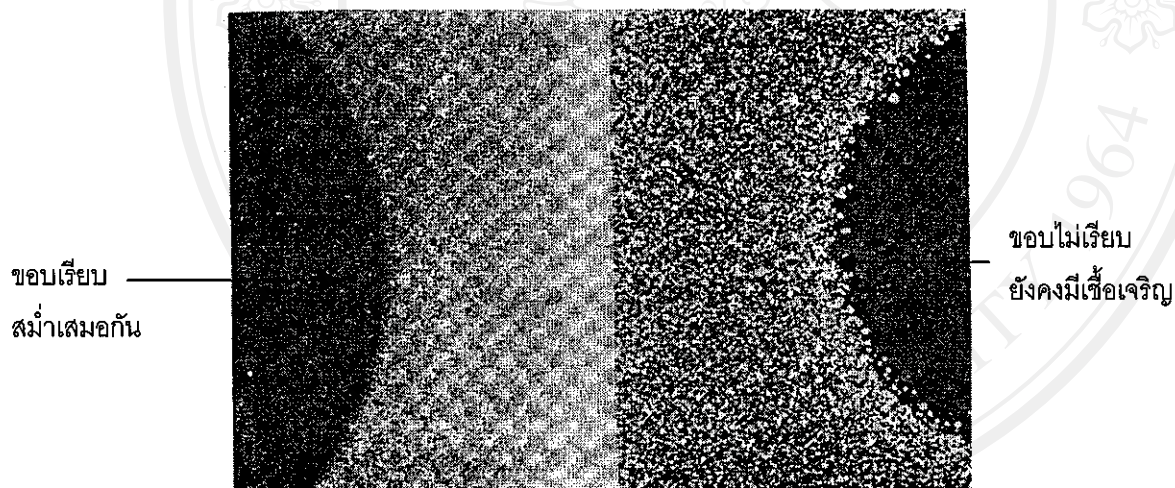
ภายหลังการเพาะเชื้อบน agar แล้ว การวางกระดาษซั้วงกลมไม่ควรเกิน 15 นาทีหลังจากนั้น แต่ถ้าหลังจากการเพาะเชื้อแล้วผิวหน้าอาหารแข็งยังเปียกอยู่ จะต้องทิ้งให้แห้งระยะหนึ่ง ในเวลาประมาณ 3-5 นาทีเพื่อป้องกันการเจือจางของสารต้านจุลินทรีย์ (Tortora *et al.*, 1992)

2.13.1.4 อุณหภูมิและเวลาการบ่มเพาะ

อุณหภูมิและเวลาในการบ่มเพาะมีผลกระทบต่อการศึกษาและการซึมของสารต้านจุลินทรีย์ในอาหารได้ โดยภายหลังจากวางกระดาษซั้วงกลมแล้วควรนำเข้าสู่ตู้บ่มเพาะทันที (มาลิน, 2541)

2.13.1.5 การวัดขนาดของบริเวณใส

โดยทั่วไป การวัดขนาดของบริเวณใสจะใช้ความละเอียดในหน่วยมิลลิเมตร โดยใช้ไม้บรรทัด คาลิเปอร์ หรือเครื่องมือไฟฟ้า ซึ่งอาจมีสาเหตุบางอย่างที่ทำให้ไม่สามารถวัดได้ชัดเจน เช่น ขอบริมของบริเวณใสไม่ชัด อาจยังมีเชื้อเจริญอยู่ประปราย ดังแสดงในรูปที่ 2 โดยสาเหตุอาจเกิดจากกลไกการออกฤทธิ์ของตัวสารต้านจุลินทรีย์เอง หรืออาจเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ปรับตัวสร้างเอนไซม์ที่ทำให้สารต้านจุลินทรีย์ที่ทดสอบเสื่อมฤทธิ์



ภาพที่ 2 บริเวณใสที่เห็นขอบได้ชัดเจน (ซ้าย) เปรียบเทียบกับขอบของบริเวณใสที่ยังยั้งเชื้อได้ไม่หมด (ขวา)

ที่มา : มาลิน, 2541