

การศึกษาคุณภาพผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งชันโรงในจังหวัดสงขลา A Study of the Quality of Chan Rong Honey Products in Songkhla Province

ปอญนุช รุธิระโก^{*1}, อนุกูล เกียรติขวัญบุตร¹, รัชนิกร ฤทธาพิพัฒน์²,
ลูกมาน สือรี² และ ณัฐกานต์ นิลอ่อน²

Poonyanuch Ruthirako^{*1}, Anukool Kietkwanboot¹, Ratchaneekorn Reudhabibadh²,
Lukman Sueree², & Nattakan Nin-on²

¹สาขาวิชาอาชีวอนามัยและความปลอดภัย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหาดใหญ่

²สาขาวิชาสาธารณสุขชุมชน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหาดใหญ่

¹Department of Occupational Health and Safety, Faculty of Science and Technology,
Hatyai University

²Department of Community Public Health, Faculty of Science and Technology, Hatyai University

Submitted 19/10/2023 ; Revised 13/12/2023 ; Accepted 29/01/2024

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณภาพผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งชันโรงในจังหวัดสงขลา มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณภาพน้ำผึ้งชันโรงของแต่ละวิสาหกิจชุมชนในจังหวัดสงขลา กลุ่มตัวอย่างเป็นวิสาหกิจชุมชนที่อยู่ในจังหวัดสงขลา จำนวน 25 กลุ่ม ทำการทดสอบคุณภาพของน้ำผึ้งชันโรง โดยศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ผลการตรวจวัดลักษณะทางกายภาพ และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ของน้ำผึ้งชันโรง ตรวจพบค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำผึ้งชันโรง มีค่าความเป็นกรดอยู่ระหว่าง 3.21 – 4.45 และค่าความชื้นมีค่าอยู่ระหว่าง 14.48 – 20.07 % ส่วนการวิเคราะห์การปนเปื้อนจุลินทรีย์ ได้ทำการวิเคราะห์ยีสต์และราเส้นใย, *Staphylococcus aureus* , *Salmonella* sp., *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* จากน้ำผึ้งชันโรงที่เก็บจาก 25 กลุ่มวิสาหกิจชุมชน พบมีปริมาณยีสต์และราเส้นใย ในช่วงน้อยกว่า 1 (CFU/g) – 9.0×10^4 CFU/g, *Staphylococcus aureus* มีปริมาณน้อยกว่า 1 CFU/g, *Bacillus cereus* มีปริมาณน้อยกว่า 1 CFU/g, *Clostridium perfringens* มีปริมาณน้อยกว่า 1 CFU/g และตรวจไม่พบ *Salmonella* sp. ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพน้ำผึ้งชันโรง ทำให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคต่อไป

คำสำคัญ: คุณภาพ น้ำผึ้งชันโรง คุณสมบัติทางกายภาพ การปนเปื้อนจุลินทรีย์

***ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author)**

E-mail: poonyanuch@hu.ac.th

Abstract

This study aimed to assess the quality of Chan Rong honey products in Songkhla Province, focusing on honey produced by community enterprises in the region. Our research involved a sample group comprising 25 community enterprises in Songkhla Province. The study encompassed an evaluation of both physical properties and microbial contamination. The results revealed that the pH values of the Chan Rong honey products ranged from 3.21 to 4.45, while the moisture content varied between 14.48% to 20.07%. Microbial contamination was also analyzed, including yeast and mold, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Bacillus cereus*, and *Clostridium perfringens* in honey samples collected from the 25 community enterprise groups. Specifically, the findings indicated that yeast and mold levels ranged from less than 1 colony-forming unit per gram (CFU/g) to 9.0×10^4 CFU/g. *Staphylococcus aureus* was detected at less than 1 CFU/g. *Bacillus cereus* was found in amounts less than 1 CFU/g, and *Clostridium perfringens* was present at levels below 1 CFU/g, while *Salmonella* sp. was not detected in any of the samples. These research outcomes hold valuable insights for enhancing the capacity of local communities in the development of high-quality, safe Chan Rong honey for consumers.

Keywords: quality, Chan Rong honey, physical properties, microbial contamination

บทนำ

ชันโรง (stingless bees) เป็นแมลงสังคม อยู่ในอันดับ Hymenoptera วงศ์ Apidae และวงศ์ย่อย Meliponinae ไม่มีเหล็กใน มีการสร้างรังตามธรรมชาติ โดยส่วนใหญ่มักถูกพบในโพรงไม้ดิน และโพรงไม้ ชันโรงมีผลต่อระบบนิเวศวิทยา การเพาะปลูกทางการเกษตร และเศรษฐกิจ เนื่องจากบทบาทสำคัญคือการผสมเกสรของดอกไม้หลากหลายชนิด [1–3] ผึ้งชันโรงมีพฤติกรรมการเก็บยางไม้ในปริมาณมาก โดยเก็บยางไม้ผสมกับไขผึ้งที่เรียกว่า “พรอพอลิส” (propolis) เป็นโครงสร้างหลักของรัง ผึ้งชันโรงเป็นหนึ่งในชนิดผึ้งที่ให้น้ำผึ้งและเกสรได้ โดยให้น้ำผึ้งในปริมาณที่น้อยกว่าผึ้งรวง แต่น้ำผึ้งชันโรงหายาก และมีราคาแพงกว่าน้ำผึ้งธรรมดาทั่วไป ทั้งนี้เพราะเชื่อว่ามีคุณค่าทางโภชนาการ และทางยาสูงกว่าน้ำผึ้งชนิดอื่น ๆ [4] น้ำผึ้งชันโรงมีสารประกอบที่มีคุณสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายประการ ได้แก่ คุณสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ หรือสารต้านอนุมูลอิสระ สารออกฤทธิ์ต้านเนื้องอก สารออกฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือด สารออกฤทธิ์ลดไขมันในเลือด และสารออกฤทธิ์ต้านไวรัส [5] ปัจจุบันได้มีการผลิตชันของยางไม้ที่ชันโรงเก็บมาจากต้นพืชหลายชนิด นำมาผสมรวมกับไขผึ้งที่ชันโรงผลิตขึ้นจากภายในลำตัวของชันโรง มีผลในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านเชื้อโรค และเพิ่มภูมิคุ้มกัน [6]

ประเทศไทยมีความเหมาะสมทุกด้านในการเลี้ยงชันโรงในเชิงเศรษฐกิจ เนื่องจากมีความหลากหลายของชนิดชันโรงในท้องถิ่น ภูมิอากาศเหมาะสม และความหลากหลายของพรรณไม้ที่เป็นอาหาร ถึงแม้ว่าผลิตภัณฑ์จากชันโรงจะมีศักยภาพในการเลี้ยงในเชิงเศรษฐกิจ และได้รับความนิยมทั้งตลาดในประเทศ และต่างประเทศ แต่เนื่องจากการขาดงานวิจัยรองรับ ไม่ว่าจะเป็นด้านเทคนิคการเลี้ยง เพื่อเก็บผลผลิต งานวิจัยที่จะยกระดับมาตรฐานเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ และความเชื่อมั่นของผู้บริโภค ทำให้การใช้ประโยชน์จากชันโรง ในประเทศไทยยังอยู่ในวงจำกัด คือเลี้ยงเพื่อรับประทานเป็นยาในครอบครัว และใช้เป็นแมลงผสมเกสรไม้ผลในพืชสวนเท่านั้น [7] น้ำผึ้งชันโรงถือเป็นอาหารพร้อมบริโภคที่เกษตรกรที่เลี้ยงชันโรงเป็นผู้เก็บน้ำผึ้ง และบรรจุขวดจำหน่าย โดยวิธีการและขั้นตอนในการเก็บน้ำผึ้งไม่ได้ควบคุมคุณภาพ อาจมีการปนเปื้อนสารพิษหรือจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogenic microorganisms) และในปัจจุบันยังไม่มีมีการประกาศเกณฑ์คุณภาพของน้ำผึ้งชันโรง ทำให้ผู้บริโภคที่ซื้อผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งชันโรงมาบริโภคอาจมีความเสี่ยงที่จะเป็นอันตรายต่อสุขภาพได้

น้ำผึ้งชันโรง ที่มีการปนเปื้อนของสารพิษหรือจุลินทรีย์ก่อโรค ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรีย ไวรัส และปรสิต จะทำให้เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค [8] โดยการปนเปื้อนของเซลล์ที่มีชีวิตของจุลินทรีย์ก่อโรค ทำให้ผู้บริโภคเจ็บป่วยจากโรค เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องเสีย และมีไข้ [9, 10] ส่วนการปนเปื้อนแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งชันโรงเป็นปัจจัยเสี่ยง ส่งผลให้เกิดอุบัติเหตุการเกิดโรคต่าง ๆ [11] หากเกษตรกรไม่ได้ควบคุมคุณภาพในการเก็บน้ำผึ้งให้ถูกหลักสุขอนามัย อาจมีการปนเปื้อนสารพิษหรือจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งเกิดได้จากกิจกรรมต่าง ๆ ได้แก่ การพูดคุย การไอ จาม [12] การขนส่ง การทำความสะอาดบ้าน หรือสถานประกอบการ การล้างห้องน้ำและสิ่งปฏิกูล และการถูพื้น ทำให้เกิดการปนเปื้อนและเกิดละอองฝอย [12, 13] ส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ได้นอกจากนี้การปนเปื้อนจุลินทรีย์อาจเกิดจากภาชนะ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บและบรรจุน้ำผึ้ง ซึ่งปัจจัยที่กล่าวข้างต้นสามารถควบคุมได้ระหว่างที่มีการเก็บน้ำผึ้งชันโรง [14] ทั้งนี้ควรให้ความสำคัญต่อจุลินทรีย์ที่ ตรวจพบในน้ำผึ้งชันโรงที่เป็นกลุ่มเชื้อราและยีสต์ ได้แก่ *Penicillium*, *Mucor*,

Schizosaccharomyces, *Saccharomyces* และ *Torula* ซึ่งทำให้เกิดการหมักในน้ำผึ้งชันโรงและเกิดความชื้นสูงกว่า 21 เปอร์เซ็นต์ เกิดสปอร์ของแบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus cereus* และ *Clostridium* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการเจ็บป่วยกับผู้บริโภค โดยเฉพาะแบคทีเรียกลุ่ม *Clostridium botulinum* ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อได้ [15] ส่วนโคลิฟอร์มและยีสต์ เป็นจุลินทรีย์ที่บ่งบอกถึงสุขอนามัยเกี่ยวกับคุณภาพของน้ำผึ้งชันโรง [14]

จากข้อมูลข้างต้น จะเห็นได้ว่ายังไม่มีเกณฑ์ควบคุมคุณภาพน้ำผึ้งชันโรง และมีโอกาสที่ผู้บริโภคอาจได้รับอันตรายจากการบริโภค หากเกษตรกรไม่ได้ควบคุมคุณภาพในการเก็บน้ำผึ้งให้ถูกหลักสุขอนามัย ผู้บริโภคที่ซื้อน้ำผึ้งชันโรงมาบริโภค อาจได้รับสารพิษหรือจุลินทรีย์ก่อโรค ดังนั้น การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งชันโรงจึงมีความสำคัญ เนื่องจากการตรวจสอบคุณภาพและความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภค และยังเป็นแนวทางในการควบคุมคุณภาพน้ำผึ้งชันโรงให้แก่เกษตรกรที่เลี้ยงชันโรงในจังหวัดสงขลา ช่วยพัฒนาคุณภาพน้ำผึ้งชันโรงในจังหวัดสงขลา เพิ่มสมรรถนะขีดความสามารถในการแข่งขัน และสร้างรายได้ให้เกษตรกรอย่างยั่งยืนต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาคุณภาพผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งชันโรงของวิสาหกิจชุมชนในจังหวัดสงขลา

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาคูณภาพผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งชันโรง ได้ทำการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งชันโรงของวิสาหกิจชุมชน ในจังหวัดสงขลา โดยเก็บตัวอย่างทั้งสิ้น 11 อำเภอ ได้แก่ อำเภอหาดใหญ่ อำเภอกลองหอย อำเภอบางกล่ำ อำเภอสะเตา อำเภोजะนะ อำเภอนาทวี อำเภอกวนเนียง อำเภอสะบ้าย้อย อำเภอเทพา อำเภอสิงหนคร และ อำเภอนาหม่อม มีรายละเอียดการดำเนินการวิจัย ดังนี้

1. การเก็บตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรง ทำเก็บตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรงจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนที่เลี้ยงผึ้งชันโรง 25 กลุ่มในจังหวัดสงขลา มีวิธีการเก็บตัวอย่างน้ำผึ้ง ดังนี้

1.1 ผึ้งชันโรงกลุ่มที่มีถ้วยน้ำผึ้งขนาดเล็ก เก็บตัวอย่างน้ำผึ้งโดยใช้มีดสะอาดตัดกลุ่มถ้วยน้ำผึ้ง และรวบรวมถ้วยน้ำผึ้งไว้ในภาชนะที่สะอาด ควรระมัดระวังไม่ให้มีถ้วยเกสรปะปนมากับน้ำผึ้ง จากนั้นนำน้ำผึ้งไปกรองด้วยผ้าขาวบาง และบรรจุในภาชนะที่ปิดสนิท

1.2 ผึ้งชันโรงกลุ่มที่มีถ้วยน้ำผึ้งขนาดใหญ่ ใช้วิธีการดูน้ำผึ้งที่ถ้วยและรวบรวมน้ำผึ้งโดยใช้อุปกรณ์และภาชนะที่สะอาด ปฏิบัติด้วยความระมัดระวัง โดยไม่ให้ถ้วยน้ำผึ้งเกิดความเสียหาย ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนในน้ำผึ้งชันโรง จากนั้นนำน้ำผึ้งไปกรองด้วยผ้าขาวบาง และบรรจุในภาชนะที่ปิดสนิท

2. การวิเคราะห์/ทดสอบ คุณสมบัติทางกายภาพและการปนเปื้อนจุลินทรีย์ มีรายละเอียดดังนี้

2.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) นำตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรง 10 มิลลิกรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ จากนั้นเติมน้ำ 100 มิลลิลิตร คนจนสารกระจายตัว แล้ววัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่อง pH meter อ่านค่าและบันทึกผล

2.2 ค่าความชื้น (moisture content) การหาค่าความชื้นในตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรง โดยการหาค่า moisture content (MC) ด้วยการชั่งน้ำหนักตัวอย่างก่อนและหลังการอบที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง แล้วคำนวณหาคร่าวร้อยละ MC ตามสูตร ดังต่อไปนี้

$$\% \text{ MC} = \frac{\text{น้ำหนักสารก่อนอบ (กรัม)} - \text{น้ำหนักสารหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักสารหลังอบ (กรัม)}} \times 100$$

2.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราเส้นใย (yeast and mold count) ปิเปตต์น้ำผึ้งชันโรงปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุ peptone water เข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างเจือจาง 1:10 และทำการเจือจางเป็นลำดับให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม ใช้วิธี spread plate ปิเปตต์ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Dichloran-Rose Bengal chloramphenicol agar (DRBC Agar) และเกลี่ยด้วยแท่งแก้วที่จุ่มและปลอดเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เพื่อนับจำนวนโคโลนีที่พบและตรวจสอบลักษณะโคโลนีที่ได้

2.4 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Staphylococcus aureus* ปิเปตต์น้ำผึ้งชันโรงปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุ peptone water เข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างเจือจาง 1:10 และนำตัวอย่างที่ผ่านการเจือจางแล้วในระดับความเจือจางที่ 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} โดยการปิเปตต์มาปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-Parker agar ที่มี egg yolk และ potassium tellurite solution ร้อยละ 1 จากนั้นทำการ spread plate ความเจือจางละ 3 จาน นำตัวอย่างแต่ละตัวอย่างไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45-48 ชั่วโมง เพื่อนับจำนวนโคโลนีที่พบและตรวจสอบลักษณะโคโลนีที่ได้

2.5 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* sp. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม หรือ ปิเปตต์ตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy broth (TS broth) จำนวน 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เขย่าและปิเปตต์ตัวอย่างจากอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ลงใน อาหารเลี้ยงเชื้อ Rappaport Vassiliadis Soya broth (RVS broth) 10 มิลลิลิตร และปิเปตต์ตัวอย่าง จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tetrathionate Brilliant Green Bile broth (TBG broth) 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง Subculture เชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ RVS Broth และ TBG Broth ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose-Lysine Deoxycholate agar (XLD agar) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-48 ชั่วโมง ตรวจสอบและสังเกตลักษณะโคโลนีที่ได้ จะมีลักษณะรูปกลม สีชมพูใส อาจมีหรือไม่มีจุดดำ ตรงกลาง มีขนาดใหญ่มนวาวหรืออาจมีสีดำทั้งโคโลนี

2.6 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Bacillus cereus* ใช้เทคนิคปลอดเชื้อ ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 50 กรัม ลงในโถปั่นปลอดเชื้อ เติมน้ำเจือจางบัฟเฟอร์ฟอสเฟตของ Butterfield 450 มิลลิลิตร (เจือจาง 1:10) แล้วปั่นด้วยความเร็วสูงเป็นเวลา 2 นาที (10,000-12,000 รอบต่อนาที) เจือจางตั้งแต่ 10^{-2} ถึง 10^{-6} โดยถ่ายโอนตัวอย่างที่ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน 10 มิลลิลิตร (1:10) ไปเป็นสารเจือจางเจือจางขนาด 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยการเขย่าแรง ๆ และทำต่อไปจนกระทั่งถึงการเจือจาง 10^{-6}

ใช้วิธี spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Bacara หรือ Mennitol-egg yolk-phenal red polymyxin agar (MYP Agar) เจือจางตัวอย่างแต่ละครั้ง (รวมถึง 1:10) โดยการปิเปตมาปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเป็นเวลา 18–24 ชั่วโมง ที่ 30 องศาเซลเซียส และสังเกตโคโลนีที่ล้อมรอบด้วยโซนตกตะกอน ซึ่งบ่งชี้ว่ามีการผลิตเลซิทีเนส ของเชื้อ *B. cereus* มักเป็นสีชมพูส้มบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Bacara หรือสีชมพูบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP agar

2.7 การตรวจวิเคราะห์เชื้อ *Clostridium perfringens* วิเคราะห์ปริมาณ *C. perfringens* โดยวิธี spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptose Sulfite Cycloserine agar (TSC agar) โดยใช้ตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} ความเจือจางละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ในสภาวะไร้อากาศ ซึ่งเป็นขั้นตอน presumptive test ทำการนับโคโลนีของเชื้อ *C. perfringens* ซึ่งเมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSC agar จะมีโคโลนีสีดำ

3. การวิเคราะห์ข้อมูล ใช้วิธีการวิเคราะห์ค่าเปรียบเทียบกับเกณฑ์คุณภาพของเครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิท จากประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3 [16]

ผลการวิจัย

การวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ของน้ำผึ้งชันโรง ได้ทำการตรวจลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ ค่ากรด-ด่าง (pH) และความชื้น (moisture) ส่วนการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนจุลินทรีย์ ได้ตรวจปริมาณยีสต์และราเส้นใย ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่พบทั่วไปตามธรรมชาติ และ ยีสต์มักพบในอาหารที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้มีการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์อีก 4 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* เนื่องจากเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร จึงมีความจำเป็นต้องตรวจเนื่องจากเสี่ยงต่อโรกระบบทางเดินอาหาร

ผลการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ จำนวน 25 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 1 รายละเอียด ดังนี้

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางกายภาพและการปนเปื้อนจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งชันโรง

Community enterprises	pH (at 10% w/v)	Moisture content (%)	Yeast and Mold Count (CFU/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (CFU/g)	<i>Salmonella</i> sp. (CFU/g)	<i>Bacillus cereus</i> (CFU/g)	<i>Clostridium perfringens</i> (CFU/g)
Group 1	3.60	16.66	<1	<1	ND	<1	<1
Group 2	3.85	15.59	3.8×10^3	<1	ND	<1	<1
Group 3	4.05	18.32	2.0×10^3	<1	ND	<1	<1
Group 4	3.95	15.88	10	<1	ND	<1	<1
Group 5	4.20	18.23	3.0×10^4	<1	ND	<1	<1
Group 6	4.25	14.48	195	<1	ND	<1	<1
Group 7	3.84	17.16	80	<1	ND	<1	<1
Group 8	4.07	16.20	640	<1	ND	<1	<1
Group 9	3.94	18.04	475	<1	ND	<1	<1
Group 10	4.13	17.44	515	<1	ND	<1	<1
Group 11	4.26	14.63	595	<1	ND	<1	<1
Group 12	4.16	15.47	530	<1	ND	<1	<1
Group 13	3.80	16.49	<1	<1	ND	<1	<1

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางกายภาพและการปนเปื้อนจุลินทรีย์ของน้ำผิ่ชั้นโรง (ต่อ)

Community enterprises	pH (at 10% w/v)	Moisture content (%)	Yeast and Mold Count (CFU/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (CFU/g)	<i>Salmonella</i> sp. (CFU/g)	<i>Bacillus cereus</i> (CFU/g)	<i>Clostridium perfringens</i> (CFU/g)
Group 14	4.10	16.06	2.8×10^3	<1	ND	<1	<1
Group 15	4.25	18.13	1.6×10^4	<1	ND	<1	<1
Group 16	3.41	17.17	70	<1	ND	<1	<1
Group 17	3.68	18.20	<1	<1	ND	<1	<1
Group 18	4.08	17.21	20	<1	ND	<1	<1
Group 19	4.05	17.11	435	<1	ND	<1	<1
Group 20	4.19	18.26	6.0×10^3	<1	ND	<1	<1
Group 21	4.43	16.58	96	<1	ND	<1	<1
Group 22	4.45	16.81	2.1×10^4	<1	ND	<1	<1
Group 23	4.24	17.93	9.0×10^3	<1	ND	<1	<1
Group 24	3.90	19.68	9.0×10^4	<1	ND	<1	<1
Group 25	3.42	20.07	2	<1	ND	<1	<1

ND = Not Detected

จาก ตารางที่ 1 การตรวจวัดลักษณะทางกายภาพ และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ ของน้ำผิ่ชั้นโรง ที่เก็บจาก 25 กลุ่มวิสาหกิจชุมชน ตรวจพบค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำผิ่ชั้นโรง มีค่าความเป็นกรดอยู่ระหว่าง 3.21 – 4.45 ส่วนค่าความชื้นมีค่าอยู่ระหว่าง 14.48 -20.07%

การวิเคราะห์การปนเปื้อนจุลินทรีย์ ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราเส้นใย, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* จาก น้ำผิ่ชั้นโรงที่เก็บจาก 25 กลุ่มวิสาหกิจชุมชน พบค่าการปนเปื้อน ดังนี้ 1) ปริมาณยีสต์และราเส้นใย น้อยที่สุด มีปริมาณน้อยกว่า 1 (CFU/g) และ ตัวอย่างที่มีปริมาณยีสต์และราเส้นใยมากที่สุด มีปริมาณ 9.0×10^4 CFU/g 2) *Staphylococcus aureus* มีปริมาณน้อยกว่า 1 CFU/g ทั้ง 25 ตัวอย่าง 3) *Salmonella* sp. ตรวจไม่พบทั้ง 25 ตัวอย่าง 4) ปริมาณ *Bacillus cereus* มีปริมาณน้อยกว่า 1 CFU/g ทั้ง 25 ตัวอย่าง และ 5) ปริมาณ *Clostridium perfringens* มีปริมาณน้อยกว่า 1 CFU/g ทั้ง 25 ตัวอย่าง

เนื่องจากยังไม่มีการประกาศเกณฑ์คุณภาพของน้ำผิ่ชั้นโรง จึงเทียบเคียงผลการวิเคราะห์กับ เกณฑ์คุณภาพของเครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิท จากประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เรื่องเกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3 [16] ดังนี้

เมื่อนำเกณฑ์คุณภาพของเครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิท มาเปรียบเทียบกับผลการ วิเคราะห์น้ำผิ่ชั้นโรงทั้ง 25 ตัวอย่าง พบตัวอย่างน้ำผิ่ชั้นโรงทั้ง 25 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อน จุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens* โดยเทียบกับเกณฑ์คุณภาพของเครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิท (ไม่พบ *Staphylococcus aureus* /0.1 มิลลิลิตร, ไม่พบ *Salmonella* spp. /25 มิลลิลิตร, *Clostridium perfringens* น้อยกว่า 100 CFU/มิลลิลิตร, *Bacillus cereus* น้อยกว่า 100 CFU/ มิลลิลิตร) ส่วนผลการวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราเส้นใย ในเกณฑ์คุณภาพของเครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุใน ภาชนะปิดสนิทไม่ได้ระบุเกณฑ์ไว้ แต่มีการระบุเกณฑ์จำนวนยีสต์ น้อยกว่า 5,000 CFU/มิลลิลิตร และ จำนวนราเส้นใย น้อยกว่า 100 CFU/มิลลิลิตร หากใช้เกณฑ์จำนวนยีสต์ (มีค่าน้อยกว่า 5,000 CFU/

มิลลิลิตร) มาพิจารณา พบตัวอย่างน้ำฝั้ช้โรงที่ผ่านเกณฑ์จำนวน 19 ตัวอย่าง และไม่ผ่านเกณฑ์จำนวน 6 ตัวอย่าง เนื่องจากการตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำฝั้ช้โรง พบน้ำฝั้ช้โรงทุกตัวอย่างมีค่าความเป็นกรดอยู่ระหว่าง 3.41 – 4.45 ซึ่งเป็นสภาวะที่ยีสต์สามารถเจริญเติบโตได้ดี แต่ถ้านำเกณฑ์ของมาตรฐานน้ำฝั้ช้ จากประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 211 พ.ศ.2543 [17] ที่ได้กำหนดว่าในน้ำฝั้ช้ต้องตรวจพบยีสต์และราเส้นใย ไม่เกิน 10 โคลนีนต่อน้ำฝั้ช้ 1 กรัม พบตัวอย่างน้ำฝั้ช้โรงที่ผ่านเกณฑ์ จำนวน 5 ตัวอย่าง และไม่ผ่านเกณฑ์จำนวน 20 ตัวอย่าง

อภิปรายผลการวิจัย

จากการตรวจสอบคุณภาพของน้ำฝั้ช้โรง โดยตรวจลักษณะทางกายภาพ และการปนเปื้อนจุลินทรีย์ของน้ำฝั้ช้โรงที่เก็บจาก 25 กลุ่มวิสาหกิจชุมชน ตรวจพบค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำฝั้ช้โรง มีค่าความเป็นกรดอยู่ระหว่าง 3.21 – 4.45 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chuttong et.al. [18] ที่ตรวจพบค่าความเป็นกรด-ด่าง มีค่าอยู่ระหว่าง 3.1–3.9 ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างจะมีผลต่อเนื้อสัมผัส ความเสถียร และอายุการเก็บรักษา ความเป็นกรดยังช่วยเพิ่มรสชาติให้กับน้ำฝั้ช้และเป็นตัวขั้ความคงตัวของจุลินทรีย์ เนื่องจากแบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่สามารถเติบโตได้ในสภาพแวดล้อมที่เป็นกรด [19] ส่วนค่าความชื้นของน้ำฝั้ช้โรงที่ตรวจ มีค่าอยู่ระหว่าง 14.48–20.07% สอดคล้องกับงานวิจัยของ สมนึก บุญเกิด [20] ที่เก็บน้ำฝั้ช้โรงที่เลี้ยงในพื้นที่ของวังสระปทุม จำนวน 3 จุด โดยตรวจค่าความชื้นของน้ำฝั้ช้โรงมีค่าระหว่าง 16–20%, 23–27% และ 21–24% ตามลำดับ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shamsudin et al. [21] ที่ตรวจพบค่าความชื้นในน้ำฝั้ช้โรง มีค่าระหว่าง 14.67–25.49% ซึ่งความชื้นในน้ำฝั้ช้โรง มีสาเหตุมาจากแหล่งทางพฤกษศาสตร์ของน้ำหวาน สภาพอากาศ และวิธีการในการเก็บน้ำฝั้ช้โรง ทั้งนี้ปริมาณความชื้นถือเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในน้ำฝั้ช้ เนื่องจากอาจส่งผลต่อความหนืด น้ำหนัก การบ่ม รสชาติ และการตกผลึกของน้ำฝั้ช้โรง [22]

จากรายงานการศึกษาของ Anderson et al. [23] และ Morais et al. [24] กล่าวว่าจุลินทรีย์ที่พบมากในน้ำฝั้ช้โรงเป็นยีสต์ รา และแบคทีเรีย ซึ่งแบคทีเรียที่พบส่วนใหญ่เป็น *Bacillus*, *Streptomyces*, และ *Lactobacillus* [25–28] แหล่งที่มาของแบคทีเรียเกิดได้ในเกษตร อากาศ ดอกไม้ และระบบย่อยอาหารของชันโรง ส่วนแบคทีเรียที่อยู่ในน้ำฝั้ช้โรงมาจากการปนเปื้อนของมนุษย์ อุปกรณ์ ภาชนะบรรจุ ลม และฝุ่น [29] ซึ่งตัวอย่างน้ำฝั้ช้โรงจากการศึกษาครั้งนี้ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิด (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens*) ไม่เกินเกณฑ์คุณภาพของเครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิท

ส่วนปริมาณยีสต์และราเส้นใย ของการศึกษานี้มีค่าน้อยที่สุดคือ น้อยกว่า 1 (CFU/g) และตัวอย่างที่มีปริมาณยีสต์และราเส้นใย มากที่สุด เท่ากับ 9.0×10^4 CFU/g เมื่อเทียบกับเกณฑ์คุณภาพของเครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิท จากประกาศกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบตัวอย่างน้ำฝั้ช้โรงที่มีค่าเกินเกณฑ์คุณภาพเครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิท (มีค่ายีสต์เกิน 5,000 CFU/g) สอดคล้องกับน้ำฝั้ช้โรงที่เก็บจากโรงที่เลี้ยงในพื้นที่ของวังสระปทุม จำนวน 3 จุด โดยมีปริมาณยีสต์รวม 1.1×10^4 ถึง 3.9×10^5 CFU/g ซึ่งมีค่าเกินเกณฑ์คุณภาพเครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิทเช่นเดียวกัน แต่เนื่องจากยังไม่มีเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำฝั้ช้โรง มีแต่เพียงการเทียบเคียงกับมาตรฐานเกณฑ์คุณภาพของเครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิทเท่านั้น ทั้งนี้ค่ายีสต์ที่มีค่าเกินเกณฑ์

คุณภาพเครื่องดื่มที่ไม่ได้บรรจุในภาชนะปิดสนิท เกิดได้จากหลายสาเหตุ ได้แก่ การปนเปื้อนจุลินทรีย์ อาจเกิดจากภาชนะ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บและบรรจุน้ำผึ้ง

สรุปผลการวิจัย

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์เกิดจากกิจกรรมของมนุษย์เช่น การพูดคุย การไอ จาม [12] การขนส่ง การทำความสะอาดบ้าน หรือสถานประกอบการ การล้างห้องน้ำและสิ่งปฏิกูล และการถูพื้น ทำให้เกิดการปนเปื้อนและเกิดละอองฝอย [12, 13] ถึงแม้ว่าน้ำผึ้งชั้นโรงจะมีความหนืดสูง ค่าปริมาณน้ำอิสระ และ สารอาหารต่ำ แต่ยังคงพบจุลินทรีย์ในเกสร ผุ่น อากาศ ดิน และ น้ำหวาน ซึ่งควบคุมได้ยาก จึงเกิดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งจากภาชนะ อุปกรณ์ ซึ่งควบคุมให้ถูกหลักสุขอนามัยได้ระหว่างที่มีการเก็บน้ำผึ้งชั้นโรง [14] เพื่อให้ผู้บริโภคที่ซื้อผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งชั้นโรงมาบริโภคมีความปลอดภัย เกษตรกรที่เลี้ยงชันโรง ควรมีการควบคุมคุณภาพน้ำผึ้งชั้นโรง โดยควบคุมวิธีการเก็บน้ำผึ้งชั้นโรง และภาชนะที่บรรจุ การปนเปื้อนจุลินทรีย์อาจเกิดทั้งจากภาชนะ อุปกรณ์ ซึ่งควบคุมให้ถูกหลักสุขอนามัยได้ระหว่างที่มีการเก็บน้ำผึ้งชั้นโรงให้ปราศจากเชื้อ เพื่อให้น้ำผึ้งชั้นโรงที่จำหน่ายมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

ผลการศึกษาครั้งนี้ ช่วยให้เกษตรกรที่เลี้ยงชันโรงทราบถึงการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในน้ำผึ้งชั้นโรง และได้แนวทางในการควบคุมคุณภาพให้ปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยแนวทางที่ทำให้ผู้บริโภคมีความมั่นใจในการบริโภคน้ำผึ้งชั้นโรง คือ การขึ้นทะเบียน อย. น้ำผึ้งชั้นโรง ปัจจุบันมีวิสาหกิจชุมชนที่ขอขึ้นทะเบียน อย. ของน้ำผึ้งชั้นโรงเพียงกลุ่มเดียวเท่านั้น ซึ่งกลุ่มอื่นยังอยู่ระหว่างดำเนินการ เนื่องจากต้องใช้งบประมาณในการจัดสร้างโรงเรือนและจัดซื้อวัสดุอุปกรณ์ อย่างไรก็ตามเพื่อให้วิสาหกิจชุมชนสามารถขายผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งชั้นโรงได้ในปริมาณมากขึ้น คณะผู้วิจัยได้วางแผนศึกษาคุณภาพน้ำผึ้งชั้นโรง (สี รสชาติ และคุณค่าทางโภชนาการ) ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณงบประมาณในการสนับสนุนทุนการวิจัยจากหน่วยบริหารและจัดการทุนด้านการพัฒนาระดับพื้นที่ (บพท.) และขอขอบคุณกลุ่มวิสาหกิจชุมชนทั้ง 25 กลุ่ม ที่เอื้อเฟื้อตัวอย่างน้ำผึ้งชั้นโรง

เอกสารอ้างอิง

- [1] ณัฐพัชร เกียรติวรกานต์. (2560). มารู้จักกับชันโรง: ฐานเรียนรู้ผึ้งชันโรง มหาวิทยาลัยแม่โจ้. [ออนไลน์], สืบค้นจาก <http://mjustinglessbee.com/content.php?view=201501211501163qZjwWu> (23 กรกฎาคม 2560).
- [2] Rao, P. V., Krishnana, K. T., Sallehb, N., & Gan, S. H. (2016). Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26, 657–664.
- [3] Rasmussen, C., & Cameron, S. A. (2010). Global stingless bee phylogeny supports ancient divergence, vicariance, and long distance dispersal. *Biological Journal of Linnean Society*, 99, 206–232.

- [4] สมนึก บุญเกิด และธนาธิ เสือวรรณศรี. (2544). *ผึ้ง แมลงที่มีแต่ให้...?*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ มติชน.
- [5] Adnan, F., Sadiq, M., & Jehangir, A. (2011). Anti-hyperlipidemic effect of Acacia honey (desi kika) in cholesterol-diet induced hyperlipidemia in rats. *Biomedica*, 27, 62–67.
- [6] วุฒิพร เสาวคนธ์. (2562). *แผนธุรกิจการจำหน่ายผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งชันโรง ภายใต้แบรนด์ PEUNG JIEW*. การจัดการมหบัณฑิต สาขาวิชาความเป็นผู้ประกอบการ. มหาวิทยาลัยกรุงเทพ.
- [7] อรรณพ ดวงภักดี, ปรีชา รอดอ้อม, มนูญญา เพียรเจริญ และ สุภาวดี ชมพูพันธ์. (2553). *การศึกษา การเลี้ยงชันโรง เพื่อผลิตน้ำผึ้งสมุนไพรและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้*. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัย.
- [8] ศนิ จิระสถิตย์. (2560). จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 22(2), 218–232.
- [9] Ray, B., & A. Bhunia. (2014). *Fundamental Food Microbiology* (5th ed). Florida: Taylor & Francis.
- [10] Scallan, E., Griffin, P. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., & Hoekstra, R. M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States-unspecified agents. *Emerging Infectious Diseases*, 17, 16–22.
- [11] Khalid, M. I., Chilik, T. Z. T., Ahmad, F., Abd Razak, S. B., & Mohd Amin, A. T. (2019). Bio-risk stingless bee honey: an assessment of microbial air quality surrounding meliponiculture farm with IMA standard at Marang and Kuala Nerus, Terengganu, Malaysia. *Asian Journal of Agriculture and Biology*, Special Issue, 86–91.
- [12] Kalogerakis, N., Paschli, D., Lekaditis, V., Pandidou, A., Eleftheriadis, K., & Lazaridis, M. (2005). Indoor air quality - bioaerosol measurements in domestic and office premises. *Journal of Aerosol Science*, 36(5–6), 751–761.
- [13] Chen, Q., & Hildermann, L. M. (2009). The effect of human activities on exposure to particulate matter and bioaerosols in residential homes. *Environmental Science and Technology*, 43(13), 4641–4646.
- [14] Snowdon, J. A., & Cliver, D. O. (1996). Microorganisms in honey. *International Journal of Food Microbiology*, 31, 1–26.
- [15] สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร. (2561). *เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและ ภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับที่ 3*. [ออนไลน์], สืบค้นจาก www.moph.go.th (6 กันยายน 2566).
- [16] Van der Vorst, M. M., Jamal, W., Rotimi, V. O., & Moosa, A. (2006). Infant botulism due to consumption of contaminated commercially prepared honey. *Medical Principles Practice*, 15, 456–458.
- [17] สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. (2557). *มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 8003-2556*. [ออนไลน์], สืบค้นจาก www.acfs.go.th/standard/download/honey.pdf (6 กันยายน 2566).

- [18] Chuttong, B., Chanbang, Y., Sringarm, K., & Burgett, M. (2016). Physicochemical profiles of stingless bee (Apidae: Meliponini) honey from South East Asia (Thailand). *Food Chemistry*, 192, 149–155.
- [19] Keng, C. B., Haron, H., Talib, R. A., Subramaniam, P. (2017). Physical properties, antioxidant content and anti-oxidative activities of Malaysian stingless kelulut (*Trigona* spp.) honey. *Journal of Agricultural Science*, 9(13), 32–40.
- [20] สมนึก บุญเกิด. (ม.ป.ป). *คู่มือการเพาะเลี้ยงผึ้งชันโรง(ผึ้งจิ๋ว)*, ม.ป.ท.
- [21] Shamsudin, S., Selamat, J., Sanny, M., Bahari, A. R. S., Jambari, N. N., & Khatib, A. (2019). A comparative characterization of physicochemical and antioxidants properties of processed *Heterotrigona itama* honey from different origins and classification by chemometrics analysis. *Molecules*, 24(3898), 1–20.
- [22] Nascimento, A., Marchini, L., Carvalho, C., Araújo, D., Olinda, R., & Silveira, T. (2015). Physical-chemical parameters of honey of stingless bee (Hymenoptera: Apidae). *Chemical Sciences Journal*, 7, 139–149.
- [23] Anderson, K. E., Sheehan, T. H., Eckholm, B. J., Mott, B. M., & DeGarndi-Hoffman, G. (2011). An emerging paradigm of colony health: microbial balance of the honey bee and hive (*Apis mellifera*). *Insectes Sociaux*, 58, 431–444.
- [24] Morais, P. B., Calaça, P. S. S. T., & Rosa, C. A. (2013). *Microorganisms associated with stingless bees*. In Pot-Honey: A Legacy of Stingless Bees. New York: Springer.
- [25] Amin, F. A. Z., Sabri, S., Ismail, M., Chan, K. W., Ismail, N., Mohd Esa, N., Mohd Lila, M. A., & Zawawi, N. (2020). Probiotic properties of *Bacillus* strains isolated from stingless bee (*Heterotrigona itama*) honey collected across Malaysia. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(1), 278.
- [26] Ngalimat, M. S., Raja Abd Rahman, R. N. Z., Yusof, M. T., Syahir, A., & Sabri, S. (2019). Characterisation of bacteria isolated from the stingless bee, *Heterotrigona itama*, honey, bee bread and propolis. *Peer Journal*, 7, 1–20.
- [27] Promnuan, Y., Kudo, T., & Chantawannakul, P. (2009). Actinomycetes isolated from beehives in Thailand. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(9), 1685–1689.
- [28] Yaacob, S. N. S., Huyop, F., Ibrahim, R. K. R., & Wahab, R. A. (2018). Identification of *Lactobacillus* spp. and *Fructobacillus* spp. isolated from fresh *Heterotrigona itama* honey and their antagonistic activities against clinical pathogenic bacteria. *Journal of Apicultural Research*, 57(3), 395–405.
- [29] Olaitan, P. B., Adeleke, O. E., & Iyabo, O. O. (2007). Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory. *African Health Sciences*, 7(3), 159–165.