

การเพิ่มฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและสารต้านอนุมูลอิสระ  
ของชาหมักคอมบูชาโดยใช้สมุนไพร

ENHANCING ON ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT OF  
KOMBUCHA TEA BY HERBS



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ปีการศึกษา 2559

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ENHANCING ON ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT OF  
KOMBUCHA TEA BY HERBS



A SPECIAL PROJECT IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS  
FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY  
DEPARTMENT OF BIOLOGY  
FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ **ACADEMIC YEAR 2016** ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

การเพิ่มฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและสารต้าน  
อนุมูลอิสระของชาหมักคอมบูชาโดยใช้สมุนไพร  
Enhancing on antimicrobial and antioxidant of  
kombucha tea by herbs

ชื่อนักศึกษา

วัลลภา                      ตันติจรัสกุลศิริ  
สุชีรา                      ครองบุญ  
อาทิตติญา              คล้ายบัว

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา

ชีววิทยา

ปีการศึกษา

2559

อาจารย์ที่ปรึกษา

รศ.ดวงใจ                      โอชัยกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการ  
พิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)  
ประจำปีการศึกษา 2559

|   |                    |
|---|--------------------|
| คณะกรรมการสอบ                                   | ลายมือชื่อ         |
| ผศ.ลินจง สุขลำภู<br>ประธานกรรมการ               | กิ่งทอง สุวิมล     |
| ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล<br>กรรมการ               | สุนัดดา ศรีวัชรกุล |
| รศ.ดวงใจ โอชัยกุล<br>กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา | DM R               |

ลิขสิทธิของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ไม่ให้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

|                    |   |                  |                       |
|--------------------|---|------------------|-----------------------|
| หัวข้อโครงการพิเศษ | การเพิ่มฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและสารต้านอนุมูลอิสระของชาหมักคอมบูชาโดยใช้สมุนไพร<br>Enhancing on antimicrobial and antioxidant of kombucha tea by herbs |                  |                       |
| ชื่อนักศึกษา       | วัลลภา  | ตันติจรัสกุลสิริ | รหัสนักศึกษา 56050907 |
|                    | สุชีรา  | ครองบุญ          | รหัสนักศึกษา 56050936 |
|                    | อาทิตติญา   | คล้ายบัว         | รหัสนักศึกษา 56050955 |
| ปริญญา             | วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)   |                  |                       |
| ภาควิชา            | ชีววิทยา  |                  |                       |
| ปีการศึกษา         | 2559  |                  |                       |
| อาจารย์ที่ปรึกษา   | รศ.ดวงใจ  | โอชัยกุล         |                       |

#### บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มคอมบูชาที่นำชาดำมาผสมกับสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ขิง สะระแหน่ และเก๋ากี้ หมักที่อุณหภูมิห้อง พบว่าการใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรเท่ากับ 1:1 ให้คะแนนความพึงพอใจจากผู้ทดสอบชิมมากกว่าการใช้อัตราส่วน 1:2 1:3 1:4 2:1 3:1 และ 4:1 จากการหมักชาดำร่วมกับสมุนไพรแต่ละชนิดในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 วัน พบว่าคอมบูชาทุกชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก โดยชาดำผสมสะระแหน่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคสูงกว่าคอมบูชาชนิดอื่น มีบริเวณยับยั้งจุลินทรีย์อยู่ในช่วง  $6.00 \pm 0.00$  ถึง  $12.51 \pm 0.66$  มิลลิเมตร แต่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans* ในคอมบูชาทุกชนิด สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดีพีพีเอช พบว่าชาดำผสมสะระแหน่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในวันที่ 20 ของการหมักมีค่าร้อยละ  $89.47 \pm 0.48$  เมื่อนำชาดำผสมสมุนไพรที่หมักเป็นเวลา 20 วัน มาปรับปรุงรสชาติ และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรครวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอีกครั้ง จะเห็นได้ว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงเหลือร้อยละ  $82.48 \pm 0.60$  ถึง  $85.99 \pm 0.41$  และมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคลดลงในเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดที่นำมาทดสอบ

**คำสำคัญ :** การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค การต้านอนุมูลอิสระ สมุนไพร ชาหมักคอมบูชา  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนเวลาสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

|               |   |                   |                     |
|---------------|---|-------------------|---------------------|
| Title         | Enhancing on antimicrobial and antioxidant of kombucha tea by herbs |                   |                     |
| Students      | Wanlapa   | Tanticharakunsiri | Student ID 56050907 |
|               | Sucheera  | Krongboon         | Student ID 56050936 |
|               | Arthitiya   | Klaibua           | Student ID 56050955 |
| Degree        | Bachelor of Science (Biotechnology)                                 |                   |                     |
| Department    | Biology   |                   |                     |
| Academic Year | 2016  |                   |                     |
| Advisor       | Assoc.Prof.Duangjai Ochaikul  |                   |                     |

### Abstract

This study focused on the antimicrobial and antioxidant activities of kombucha beverage which was prepared from different herbs such as ginger, peppermint and golji berry. These were fermented at room temperature for 10 days. The result found that the ratio of black tea with herbs (1:1) had higher score of the sensory test than 1:2 1:3 1:4 2:1 3:1 and 4:1 ratio. The black tea with herbs on ratio of 1:1 was fermented for 20 days. All of kombucha were increased antimicrobial and antioxidant activities during fermentation. After that fermentation on ratio 1:1 for 20 days once again to find that all of kombucha increase antimicrobial and antioxidant activities among a times of fermented. Black tea which was fermented with peppermint gave the highest clear zone ( $6.00 \pm 0.00$  to the  $12.51 \pm 0.66$  mm). In addition all of kombucha was uninhibited *Candida albicans*. The black tea fermented with peppermint gave the highest scavenging activity on DPPH ( $89.47 \pm 0.48\%$ ). After that blending kombucha with herbs found to slightly decrease on antimicrobial and antioxidant activities.

**Keywords :** Antimicrobial, Antioxidant, Herbs, Kombucha

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้จะประสบความสำเร็จไปไม่ได้ หากไม่ได้รับความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่าน บุคคลแรกที่ต้องกล่าวคำขอบพระคุณเป็นอย่างสูง คือ รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล ที่คอยให้คำปรึกษาด้านการทดลองอีกทั้งด้านการวางแผนการทำงาน คอยให้คำชี้แนะและแนวทางในการแก้ปัญหาต่างๆ จนทำให้ผู้วิจัยสามารถทำโครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ลินจง สุขล่ำภู และดร.สุทธิจิต ศรีวิชรกุล ที่ให้คำแนะนำด้านการทดลองขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการและเจ้าหน้าที่ธุรการทุกท่านที่คอยอำนวยความสะดวกในการเบิกอุปกรณ์และสารเคมี ช่วยอำนวยความสะดวกด้านการติดต่อประสานงาน ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ทุกคนที่คอยให้คำปรึกษา รวมถึงการแลกเปลี่ยนความรู้ คำแนะนำและกำลังใจเสมอมา ที่สำคัญอย่างยิ่ง ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่เป็นแรงผลักดันและให้โอกาสในการศึกษามาตลอด

คุณงามความดีใดๆ ที่เกิดขึ้นจากโครงการพิเศษฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบแต่บิดา มารดา ครอบครัว และครูบาอาจารย์ที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ตลอดจนกัลยาณมิตรทั้งหลาย

นางสาววัลลภา      ตันติจรัสกุลสิริ  
นางสาวสุชีรา      ครองบุญ  
นางสาวอาทิตญา      คล้ายบัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า

|  |    |
|--|----|
| บทคัดย่อภาษาไทย                          | ก  |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ                       | ข  |
| กิตติกรรมประกาศ                          | ค  |
| สารบัญ                                   | ง  |
| สารบัญตาราง                              | ฉ  |
| สารบัญรูป                                | ญ  |
| บทที่ 1 บทนำ                             | 1  |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ               | 1  |
| 1.2 วัตถุประสงค์                         | 2  |
| 1.3 ขอบเขต                               | 2  |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ            | 2  |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง    | 3  |
| 2.1 คอมบูชา                              | 3  |
| 2.2 ขั้นตอนการผลิตชาหมัก                 | 3  |
| 2.3 ชา                                   | 6  |
| 2.3.1 ประวัติของชา                       | 6  |
| 2.3.2 การจัดประเภทของชา                  | 6  |
| 2.3.3 สรรพคุณและประโยชน์ของชา            | 6  |
| 2.3.4 ข้อควรระวังในการดื่มชา             | 7  |
| 2.4 จุลินทรีย์ที่พบในคอมบูชา             | 7  |
| 2.4.1 แบคทีเรียอะซิติก                   | 8  |
| 2.4.2 ยีสต์                              | 8  |
| 2.4.3 กิจกรรมการหมักของแบคทีเรียและยีสต์ | 9  |
| 2.5 ประวัติความเป็นมาของสมุนไพรร         | 10 |
| 2.5.1 ความหมายของสมุนไพรร                | 10 |
| 2.5.2 ชิง (Ginger)                       | 10 |
| 2.5.2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของชิง        | 10 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11

## สารบัญ(ต่อ)

|   | หน้า |
|---|------|
| 2.5.3 สะระแหน่ (Kitchen mint)                                 | 11   |
| 2.5.3.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสะระแหน่                        | 11   |
| 2.5.3.2 ประโยชน์ของสะระแหน่                                   | 12   |
| 2.5.3.3 สารสำคัญที่พบในสะระแหน่                               | 12   |
| 2.5.4 เก๋ากี้ (Golgi berry)                                   | 13   |
| 2.5.4.1 ลักษณะทางทั่วไปของเก๋ากี้                             | 13   |
| 2.5.4.2 ประโยชน์ของเก๋ากี้                                    | 14   |
| 2.6 การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Antimicrobial)           | 14   |
| 2.6.1 จุลินทรีย์ก่อโรค  | 14   |
| 2.6.1.1 <i>Candida albicans</i>                               | 15   |
| 2.6.1.2 <i>Bacillus cereus</i>                                | 15   |
| 2.6.1.3 <i>Listeria monocytogenes</i>                         | 17   |
| 2.6.1.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                         | 17   |
| 2.6.1.5 <i>Staphylococcus aureus</i>                          | 18   |
| 2.6.1.6 <i>Salmonella typhimurium</i>                         | 19   |
| 2.6.1.7 <i>Escherichia coli</i>                               | 21   |
| 2.6.1.8 <i>Vibrio parahaemolyticus</i>                        | 23   |
| 2.7 อนุมูลอิสระ   | 24   |
| 2.7.1 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ (Sources of free radical)        | 25   |
| 2.7.1.1 ปฏิกิริยาภายในร่างกาย                                 | 25   |
| 2.7.1.2 ปฏิกิริยาภายนอกในร่างกาย                              | 25   |
| 2.8 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)                          | 26   |
| 2.8.1 แหล่งที่มาของแหล่งต้านอนุมูลอิสระ                       | 27   |
| 2.8.1.1 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants) | 27   |
| 2.8.1.2 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants)  | 27   |
| 2.8.2 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ                       | 27   |
| 2.8.2.1 การดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging)             | 27   |
| 2.8.2.2 การยับยั้งการทำงานของซิงเกิลออกซิเจน                  | 28   |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ(ต่อ)

|   | หน้า      |
|---|-----------|
| 2.8.2.3 การจับกับโลหะและไปเร่งการเกิดปฏิกิริยากับสาร                              | 28        |
| 2.8.2.4 การหยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (Chainbreaking)                       | 28        |
| 2.8.3 การสกัดและการตรวจสอบฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ                              | 29        |
| 2.9 การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ                             | 30        |
| 2.9.1 วิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical                           | 30        |
| 2.9.2 วิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity                              | 31        |
| 2.9.2.1 ปฏิกิริยาของไอออนโลหะทรานซิชันกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์                     | 31        |
| 2.9.2.2 การแตกตัวของน้ำเนื่องจากการถูกแสงหรือรังสี                                | 31        |
| 2.10 การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค                | 31        |
| 2.10.1 วิธีการ Agar diffusion Test  | 31        |
| 2.10.2 ขั้นตอนการทำ Agar diffusion Test   | 33        |
| 2.11 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง   | 33        |
| <b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย</b>  | <b>35</b> |
| 3.1 อุปกรณ์และสารเคมี   | 35        |
| 3.1.1 วัสดุดิบ  | 35        |
| 3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง   | 35        |
| 3.1.3 เชื้อจุลินทรีย์   | 36        |
| 3.1.4 ยาต้านเชื้อจุลินทรีย์   | 36        |
| 3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์  | 36        |
| 3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย  | 37        |
| 3.2.1 การหมักคอมบูชาเพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างชาดำกับสมุนไพรมะนาว          | 37        |
| 3.2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อชาหมักคอมบูชา  | 37        |
| 3.2.1.2 การหมักคอมบูชาร่วมกับสมุนไพรมะนาว   | 38        |
| 3.2.1.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัส   | 38        |
| 3.2.2 ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางชีวภาพของชาหมักคอมบูชาที่หมักร่วมกับสมุนไพรมะนาว | 38        |
| 3.2.2.1 การวิเคราะห์หาทางเคมี   | 38        |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์และเผยแพร่เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ(ต่อ)

|  | หน้า      |
|--|-----------|
| 3.2.2.2 การวิเคราะห์ทางชีวภาพ  | 39        |
| 3.2.3 การปรับปรุงรสชาติชาหมักร่วมกับสมุนไพรแต่ละชนิด<br>ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง   | 40        |
| 3.2.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ   | 41        |
| <b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล</b>   | <b>42</b> |
| 4.1 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการหมักร่วมกันของชาดำกับสมุนไพร   | 42        |
| 4.2 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของคอมบูชาที่หมักร่วมกับสมุนไพรในอัตราส่วน 1:1   | 44        |
| 4.2.1 ค่าพีเอช โดยใช้ pH meter   | 44        |
| 4.2.2 ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติก  | 45        |
| 4.2.3 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Total soluble solid)  | 47        |
| 4.3 การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ<br>เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชาที่หมักร่วมกับสมุนไพรในอัตราส่วน 1:1               | 48        |
| 4.3.1 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ  | 48        |
| 4.3.2 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค   | 49        |
| 4.4 การศึกษาการปรับปรุงรสชาติของคอมบูชาชนิดต่างๆ และทดสอบทางประสาท<br>สัมผัส   | 53        |
| 4.5 การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ<br>เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชาที่หมักร่วมกับสมุนไพรก่อนและหลังปรับปรุง<br>รสชาติ | 54        |
| 4.5.1 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระก่อนและหลังปรับปรุงรสชาติ   | 54        |
| 4.5.2 ฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคก่อนและหลังปรับปรุงรสชาติ   | 55        |
| <b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>   |           |
| 5.1 สรุปผลการวิจัย   | 58        |
| 5.2 ข้อเสนอแนะ   | 58        |
| <b>เอกสารอ้างอิง</b>   | <b>59</b> |
| <b>ภาคผนวก</b>   | <b>64</b> |
| ภาคผนวก ก  | 65        |
| ภาคผนวก ข  | 67        |

เอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์  
 69 การค้า  
 “ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้”

## สารบัญ(ต่อ)

ภาคผนวก ง  
 ภาคผนวก จ  
 ภาคผนวก ฉ

หน้า  
 76  
 79  
 109



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

| ตารางที่      |   | หน้า |
|---------------|---|------|
| ตารางที่ 3.1  | อัตราส่วนที่ใช้ในการปรับปรุงรสชาติทั้ง 5 สูตร   | 41   |
| ตารางที่ 4.1  | การทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำผสมขิงหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 10 วัน                                    | 42   |
| ตารางที่ 4.2  | การทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำผสมสะระแหน่ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 10 วัน                              | 43   |
| ตารางที่ 4.3  | การทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำผสมเก๋ากี้ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 10 วัน                               | 43   |
| ตารางที่ 4.4  | พีเอชในคอมบูชาแต่ละชนิด หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน   | 44   |
| ตารางที่ 4.5  | ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในคอมบูชาแต่ละชนิด หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน                  | 46   |
| ตารางที่ 4.6  | ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในคอมบูชาแต่ละชนิด หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน                     | 47   |
| ตารางที่ 4.7  | ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในคอมบูชาแต่ละชนิดวันที่ 0-20 ของการหมัก   | 48   |
| ตารางที่ 4.8  | ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชา แต่ละชนิดในวันที่ 0-20 ของการหมัก                       | 50   |
| ตารางที่ 4.9  | ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังปรับปรุงรสชาติในวันที่ 20 ของการหมัก                    | 54   |
| ตารางที่ 4.10 | ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังปรับปรุงรสชาติในวันที่ 20 ของการหมัก | 56   |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป

| รูปที่ | หน้า   |    |
|--------|--|----|
| 2.1    | กระบวนการผลิตเครื่องดื่มชาหมัก   | 4  |
| 2.2    | แสดงลักษณะของเชื้อ <i>Gluconacetobacter</i>  | 8  |
| 2.3    | แสดงลักษณะของเชื้อ <i>Dekkera bruxellensis</i>   | 9  |
| 2.4    | เหง้าขิงสด   | 10 |
| 2.5    | สระระแห่น  | 11 |
| 2.6    | ผลเก๋ากี้สด  | 13 |
| 2.7    | เม็ดเก๋ากี้แห้ง  | 13 |
| 2.8    | แสดงลักษณะของเชื้อ <i>Candida albicans</i>   | 15 |
| 2.9    | แสดงลักษณะของเชื้อ <i>Bacillus cereus</i>  | 16 |
| 2.10   | แสดงลักษณะของเชื้อ <i>Listeria monocytogenes</i>   | 17 |
| 2.11   | แสดงลักษณะของเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   | 18 |
| 2.12   | แสดงลักษณะของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i>  | 19 |
| 2.13   | แสดงลักษณะของเชื้อ <i>Salmonella typhimurium</i>   | 20 |
| 2.14   | แสดงลักษณะของเชื้อ <i>Escherichia coli</i>   | 21 |
| 2.15   | แสดงลักษณะของเชื้อ <i>Vibrio parahaemolyticus</i>  | 23 |
| 2.16   | แสดงโครงสร้างทางเคมีของ DPPH radical   | 30 |
| 4.1    | ค่าพีเอชของคอมบูชาแต่ละชนิด หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน                          | 45 |
| 4.2    | ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในคอมบูชาแต่ละชนิดหมัก ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน | 46 |
| 4.3    | ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชาแต่ละชนิด ในระยะเวลาการหมัก 10 วัน      | 52 |
| 4.4    | ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชาแต่ละชนิด ในระยะเวลาการหมัก 15 วัน      | 52 |
| 4.5    | ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชาแต่ละชนิด ในระยะเวลาการหมัก 20 วัน      | 53 |
| 4.6    | ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังปรับปรุงรสชาติ ในวันที่ 20 ของการหมัก  | 55 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป(ต่อ)

| รูปที่ |  | หน้า |
|--------|--|------|
| 4.7    | ฤทธิในการต้านอนุมูลอิสระในคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนปรับปรุงรสชาติ ใน วันที่ 20 ของการหมัก | 57   |
| 4.8    | ฤทธิในการต้านอนุมูลอิสระในคอมบูชาแต่ละชนิดหลังปรับปรุงรสชาติ ใน วันที่ 20 ของการหมัก | 57   |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

การดื่มชาได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลายในผู้บริโภคหลายกลุ่ม ทั้งกลุ่มผู้สูงอายุ วัยทำงาน และกลุ่มเด็กวัยรุ่น เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในกลุ่มของเครื่องดื่มที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ (Jane and Balz, 2003) และยังมีเครื่องดื่มอีกชนิดหนึ่ง คือ เครื่องดื่มชาหมัก ซึ่งบางครั้งอาจมีชื่อเรียกที่แตกต่างกันขึ้นกับแต่ละประเทศ เช่น ประเทศไต้หวัน เรียกว่า Haipo หรือ Tea Fungus ประเทศญี่ปุ่นเรียกว่า Kocha Kinoko นอกจากนี้ในบางประเทศ ยังรู้จักกันในชื่อของ Kargaksok Tea, Kombucha และ Manchurin Mushroom เป็นต้น รสชาติของชาหมักจะมีรสหวานเล็กน้อยและมีรสอมเปรี้ยวคล้ายคลึงกับเครื่องดื่ม Cider (ไซเดอร์) เนื่องจากมีส่วนผสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และแอลกอฮอล์ปนอยู่ด้วย รวมทั้งมีสารให้กลิ่นรสที่สำคัญในเครื่องดื่มชาหมัก เช่น กรดกลูโคนิก กรดอะซิติก และฟรุกโตส นอกจากนี้ยังพบว่ามี ethyl-gluconate, carbonic acid, succinic acid, ketoglyconic acid, saccharic acid และ oxalic acid อยู่บ้าง ตลอดจนมีวิตามินและเกลือแร่ที่จำเป็นต่อร่างกายอีกหลายชนิด การดื่มชาหมักมีผลดีต่อสุขภาพ สามารถสร้างภูมิป้องกันโรค ช่วยต้านมะเร็ง ต้านการเกิดเนื้องอก ต้านการเกิดออกซิเดชัน ช่วยลดการอักเสบ และมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรครวมทั้งยังช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคกระเพาะอาหารอักเสบ รวมทั้งยังช่วยยับยั้งการเจริญของ *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* ในทางวิทยาศาสตร์ยังไม่มีข้อมูลสนับสนุนที่ชัดเจน ในเรื่องสรรพคุณของชาหมักต่อผลของการรักษาหรือป้องกันโรคและการให้ผลดีต่อสุขภาพเมื่อดื่มชาหมัก มีรายงานวิจัยบางส่วน ได้แนะนำให้คนไข้ที่มีปัญหาเรื่องสุขภาพดื่มชาหมักเป็นประจำ ผลที่ได้พบว่าคนไข้กลุ่มที่ดื่มชาหมักมีสุขภาพโดยรวมดีขึ้น

ใบชามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สูง ซึ่งสารชนิดนี้สามารถป้องกันและชะลอกระบวนการออกซิเดชันในร่างกายได้ เช่น การช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ช่วยย่อยอาหาร ป้องกันการเกิดเซลล์มะเร็ง ป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจ และป้องกันการติดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Chen and Liu, 2000; Greenwalt และคณะ, 2000; Malbasa และคณะ, 2012; Aloulou และคณะ, 2012). การทดลองของ Battikh และคณะ(2012) ได้ศึกษาผลของการหมักสมุนไพรบางชนิดเปรียบเทียบกับชาหมักคอมบูชา พบว่าการใช้ *Lippia citriodora* และ *Foeniculum vulgare* เป็นสมุนไพรที่ทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคมะเร็งเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะ *Candida* sp. สายพันธุ์ต่างๆ ที่ไม่ทราบชื่อ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำมาทดสอบ รวมถึง *C. albicans* ด้วย ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีการนำเอาสมุนไพรชนิดต่างๆ เช่น ขิง สะระแหน่ และเก๋ากี้มาทำการหมักร่วมกับชาหมักคอมบูชาแบบดั้งเดิม เพื่อให้ชาหมักคอมบูชามีฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มมากขึ้น

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

1. ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการนำสมุนไพรมาใช้ร่วมกับการหมักชาดำและดูการยอมรับของผู้บริโภค โดยทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส
2. ศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในชาหมักคอมบูชาที่ผสมสมุนไพร
3. ผลิตชาหมักผสมสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง ศึกษาการผสมปรุงแต่งเพื่อให้มีรสชาติที่ผู้บริโภคยอมรับมากขึ้นทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลังการปรับปรุงรสชาติ

## 1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

หมักชาดำร่วมกับสมุนไพรชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันเป็นเวลา 10 วัน จากนั้นนำมาคัดเลือกชนิดของสมุนไพรและอัตราส่วนที่ผู้ทดสอบชิมยอมรับมากที่สุด อัตราส่วนที่ผ่านการคัดเลือกจะนำมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค ต่อมาทำการคัดเลือกชนิดของชาหมักผสมสมุนไพรที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงมาทำการปรุงแต่งรสชาติและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพอีกครั้ง

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถผลิตชาหมักคอมบูชาที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มขึ้น เช่น ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สมุนไพรหมักร่วมกับชาดำ ขณะเดียวกันยังได้เครื่องดื่มชาหมักเพื่อสุขภาพที่ผู้บริโภคยอมรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 คอมบูชา (Kombucha)

คอมบูชา คือ ชาหวานเพื่อสุขภาพที่ได้จากการหมักเชื้อยีสต์ที่ชอบกรด (acidophilic yeast) และแบคทีเรียอะซิติก ซึ่งแผ่นเซลล์ลูลอสที่ได้จะมีเชื้อจุลินทรีย์ตรึงอยู่บนแผ่นเซลล์ลูลอสแต่ละชั้น (Greenwalt และคณะ, 2000) โดยคอมบูชาเป็น เครื่องดื่มที่ชาวจีนนิยมดื่มกันมานานหลายพันปีและสืบทอดกันมาจนถึงปัจจุบันรวมทั้งมีการแพร่หลายไปยังประเทศต่างๆทั่วโลก เนื่อง จากเป็นเครื่องดื่มที่ให้ความสดชื่นและช่วยฟื้นฟูร่างกาย ในพ.ศ. 212 สมัยราชวงศ์จิ้น เรียกน้ำหมักชีวภาพชนิดนี้ว่าชาเห็ดแดง (hongchajun) มีความเชื่อว่าเป็น ชาอมตะ ที่เกิดจากการหมักชาจนเกิดเป็นแผ่นวุ้นขึ้นโดยแผ่นวุ้นที่เกิดขึ้นนั้นมีลักษณะคล้ายเห็ดแดงหลังจากนั้นก็เริ่มมีการเผยแพร่ไปยังประเทศเกาหลีใน พ.ศ. 957 นายแพทย์คอมบู (Kom-Bu) ได้นำชาหมักถวายให้แก่พระเจ้าจักรพรรดิญี่ปุ่นโดยอ้างว่าชาหมักสามารถรักษาได้สารพัดโรค ทำให้ถูกเรียกตั้งแต่ตอนนั้นว่า คอมบูชา (Kombucha) ขณะเดียวกันความเชื่อนี้ยังมีการเผยแพร่ไปยังประเทศอื่นๆอีกด้วย

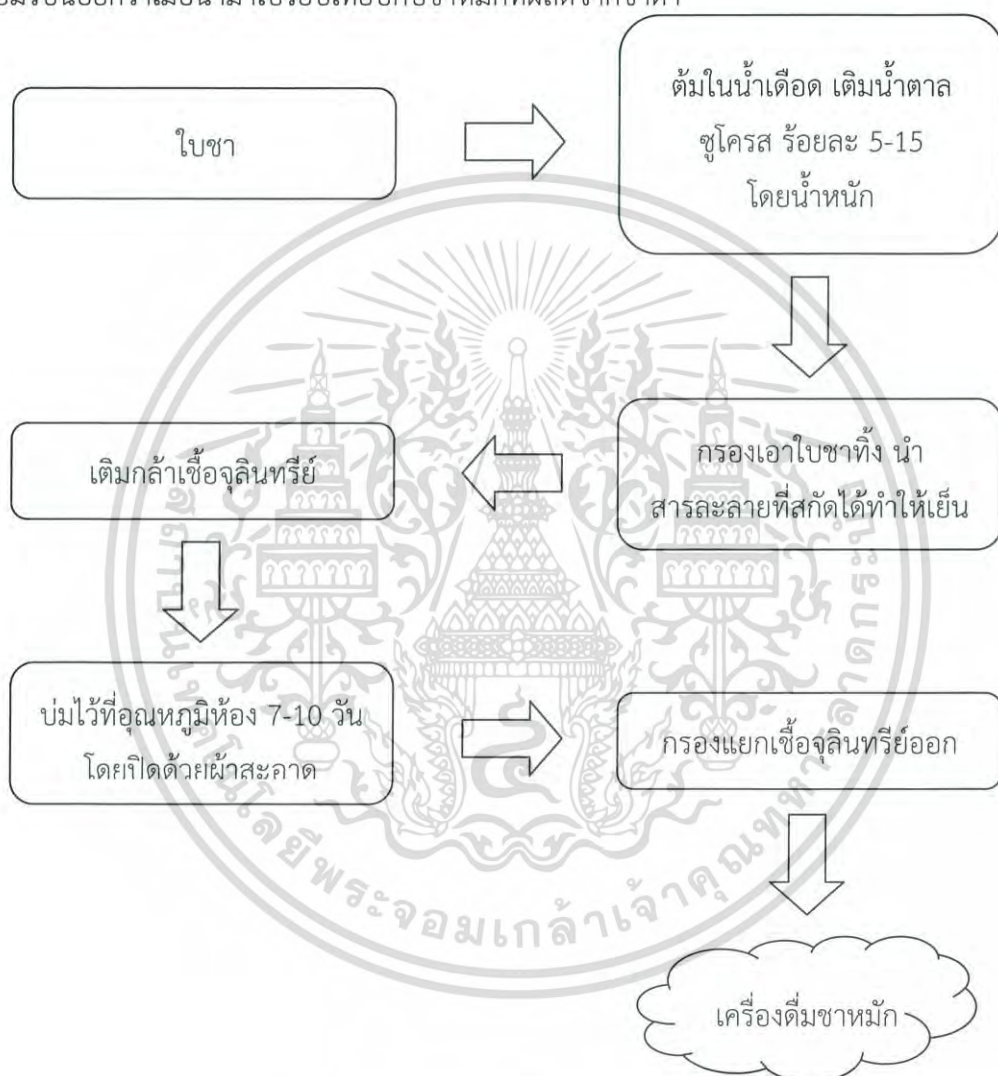
รสชาติของชาหมักคอมบูชาจะมีรสหวานอมเปรี้ยว คล้ายกันกับเครื่องดื่ม ไชเดอร์ (Cider) ในเครื่องดื่มชาหมักมีสารให้กลิ่นรสที่สำคัญ เช่น ฟรุคโตส กรดอะซิติก และกรดกลูโคนิก รวมทั้ง เอทิลกลูโคเนต กรดออกซาลิก กรดแซคคาริก กรดคีโตโกโคนิก กรดซัคซินิก และกรดคาร์บอนิก นอกจากนี้ยังมีวิตามินและเกลือแร่ต่างๆ ที่จำเป็นต่อร่างกายอีกหลายชนิด (พาณี และคณะ, 2556).

### 2.2 ขั้นตอนการผลิตเครื่องดื่มชาหมัก

ทำได้โดยการนำใบชาดำมาต้มในน้ำเดือดเพื่อสกัดสารอาหารและแร่ธาตุต่างๆ ออกจากใบชา เติมน้ำตาลซูโครสในปริมาณที่พอเหมาะเพื่อใช้เป็นแหล่งสารอาหาร และใช้ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เติมห่อเชื้อจุลินทรีย์และบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7-10 วัน เพื่อให้จุลินทรีย์ดำเนินกิจกรรมการหมักแสดงดังรูปที่ 2.1 ซึ่งขั้นตอนที่สำคัญของการผลิตชาหมัก คือ การควบคุมกิจกรรมการหมัก โดยมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายปัจจัย ได้แก่ ชนิดและปริมาณ รวมทั้งสัดส่วนของกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก คุณภาพของใบชาที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบ เนื่องจากชนิดของใบชาจะมีผลต่อความแตกต่างขององค์ประกอบที่สำคัญทางเคมีของปริมาณของแข็งที่สกัดได้ เช่น ปริมาณ caffeine theophylline theobromine และ polyphenol โดยเฉพาะสารสำคัญที่อยู่ในกลุ่มของ polyphenol ได้แก่ catechins ซึ่งมีสมบัติเป็น bacteriostatic สามารถช่วยในการยับยั้งการเจริญของ *Streptococcus mutans* และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอื่นๆ จากการศึกษาพบว่าในชาเขียวมี

เอ็กสโปสิชันของแบคทีเรียและการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในเครื่องดื่มชาหมักเป็นประโยชน์ในการดูแลสุขภาพ  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ catechins มากถึงร้อยละ 34 แต่ในชาดำมีเพียงร้อยละ 4.2 ส่วนองค์ประกอบอื่นๆ ไม้มีความแตกต่างกันมากนัก ยกเว้น thearubingens ที่มีในชาดำมากถึงร้อยละ 17 แต่ไม่พบในชาเขียว (Stag and Millin, 1975) ทำให้คุณภาพชาหมักที่ได้มีคุณภาพแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามในการผลิตชาหมักส่วนใหญ่แล้วจะใช้ชาดำมากกว่าชาชนิดอื่น เนื่องจากคุณภาพชาหมักที่ได้จะมีสี กลิ่น รสชาติที่เฉพาะและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค แม้ว่าจะมีเครื่องต้มชาหมักที่ผลิตขึ้นจากชาเขียว แต่ก็ได้รับการยอมรับน้อยกว่าเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับชาหมักที่ผลิตจากชาดำ



รูปที่ 2.1 กระบวนการผลิตเครื่องต้มชาหมัก

ปัจจัยสภาวะแวดล้อมต่างๆ ของการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ พบว่ามีความสัมพันธ์โดยตรงกับกิจกรรมการหมักและคุณภาพของเครื่องต้มชาหมักที่ผลิตได้ ได้แก่ ปริมาณสารอาหารต่างๆ ที่จำเป็นที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโต ปริมาณของน้ำตาลซูโครสที่เติมและการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ในระหว่างขั้นตอนการผลิต โดยเฉพาะการปนเปื้อนของเอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งวนไวสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์จากอุปกรณ์และภาชนะต่างๆที่นำมาใช้ในการผลิตต้องทำความสะอาดและฆ่าเชื้อก่อนใช้งานทุกครั้ง เพราะเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอาจเป็นอันตรายและก่อให้เกิดการเจ็บป่วยของโรคอาหารเป็นพิษและยังมีผลทำให้เครื่องดื่มชาหมักมีคุณภาพและรสชาติด้อยลง

การผลิตชาหมักจะใช้วิธีการเรียนรู้แบบถ่ายทอดกันมาหรือเรียกว่า ภูมิปัญญาชาวบ้าน ดังนั้นการผลิตชาหมักจึงไม่มีมาตรฐานการผลิตที่ชัดเจน รวมทั้งยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดถึงชนิดและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ดำเนินกิจกรรมระหว่างการผลิต ซึ่งในทางปฏิบัติจะนำเชื้อจุลินทรีย์จากการหมักครั้งก่อนมาเป็นหัวเชื้อเพื่อใช้ในกระบวนการหมักครั้งต่อไป แม้ว่าการผลิตชาหมักส่วนมากจะผลิตในระดับครัวเรือน แต่ผลการสำรวจความปลอดภัยของเครื่องดื่มชาหมัก พบว่าชาหมักมีอัตราการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นพิษและก่อให้เกิดอันตรายในอัตราที่ต่ำมาก ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าโดยธรรมชาติของชาหมักจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 2.5 ทำให้เป็นข้อจำกัดในการเจริญของจุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรค ส่งผลให้ชาหมักมีความปลอดภัยต่อการบริโภค อย่างไรก็ตามยังมีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่ดำเนินกิจกรรมในการหมัก (Greenwalt และคณะ, 2000; Liu และคณะ, 1996) ซึ่งพบว่าเกิดจากกลุ่มแบคทีเรียและยีสต์ โดยกลุ่มแบคทีเรียที่พบจะเป็นชนิดที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต และสามารถสร้างเซลล์ulos ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับ surface mold หรือ mushroom ส่วนกลุ่มยีสต์มีบทบาทสำคัญในด้านของกระบวนการหมัก คือ สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ และยังมีงานวิจัยที่ได้ทำการศึกษาการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตชาหมักจากแหล่งผลิตในประเทศไต้หวัน 3 แหล่ง (Liu และคณะ, 1996) ได้แก่ Taipei, Hsinchu และ Chiayi พบว่ามีกลุ่มแบคทีเรีย Acetobacter และยีสต์ เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มที่ได้มาจำแนกโดยอาศัยความแตกต่างของคุณสมบัติทางชีวเคมี (biochemical) และทางกายภาพ (physiological) พบว่าเป็นแบคทีเรียกลุ่ม *A. aceti*, *A. xylinum* และ *A. pasteurianus* ซึ่งมีคุณสมบัติเฉพาะคือสามารถผลิตเซลล์ulos ได้ ส่วนยีสต์ *S. cerevisiae*, *B. bruxellensis* และ *Z. bailii* ที่จำแนกได้ มีสิ่งที่น่าสนใจ คือ ยีสต์กลุ่มนี้มีความสำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์และอาหารหมัก ซึ่งมีคุณสมบัติเด่นคือสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเป็นกรดสูงและมีน้ำตาลสูง นอกจากนี้ยังอาจพบยีสต์ชนิดอื่นบ้างเล็กน้อยแต่เป็นยีสต์ที่ไม่ค่อยสำคัญกับกระบวนการหมัก ได้แก่ *Pichia membranaefaciens*, *Torulopsis famata*, *C. tropicalis* และ *Debrayomyces hansenii* เป็นต้น

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการดื่มชาและชาหมัก พบว่าปริมาณการดื่มชาโดยเฉลี่ยอยู่ที่ 4 ถ้วยต่อวันหรือมากกว่า ส่วนในการดื่มชาหมักจะมีปริมาณเฉลี่ยอยู่ที่ 1-2 ถ้วยต่อวัน ซึ่งถือว่าน้อยกว่าการดื่มชาถึง 2-4 เท่า สำหรับปริมาณชาหมักที่แนะนำให้ผู้บริโภคทั่วไปดื่ม คือ 100-300 มิลลิลิตรต่อครั้งหรือต่อวัน และสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงนอกจากเรื่องของปริมาณการดื่มชาหมัก คือการพิจารณาชนิดขององค์ประกอบ คุณค่าทางพฤกษเคมี และสรรพคุณในเชิงส่งเสริมสุขภาพประกอบกันไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยามให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.3 ชา (Macfarlane และ Macfarlane, 2004)

### 2.3.1 ประวัติของชา (Macfarlane และ Macfarlane, 2004)

มีต้นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออก คือ จีน และอินเดีย แต่ในปัจจุบันมีปลูกกันทั่วไปในหลายประเทศ สำหรับประเทศไทยมีปลูกมากในจังหวัดเชียงใหม่ ชาจะเจริญงอกงามได้ดีในที่สูงตามภูเขาซึ่งมีดินอุดมสมบูรณ์และฝนตกชุก ใบชาเมื่อเก็บมาจากต้นแล้วจะต้องรีบทำให้แห้งโดยเร็วด้วยการนำมาคั่วในกระทะเพื่อทำลายเอนไซม์ในใบชาให้หมดไปทำให้ไม่เกิดการบูด ใบชาประกอบด้วยกรดแกลลโลแทนนิก (Gallotannic acid) ร้อยละ 15 ซึ่งจะให้สารแทนนินออกมา ส่วนมากนิยมชงใบชากับน้ำดื่มเพื่อกระตุ้นให้ไม่ง่วงนอน นอกจากนี้ยังสามารถรักษาโรคท้องร่วงได้ คนไทยในภาคเหนือ นิยมนำมาเคี้ยวและอมแทนการกินหมาก และพบว่าจีนเป็นประเทศแรกที่รู้จักการดื่มชา โดยมีหลักฐานมาตั้งแต่ศตวรรษที่ 10 ก่อนคริสต์ศักราช

### 2.3.2 ประเภทของชา (<https://www.thehighlandtea.com>. [Online] 5 พ.ค. 2017)

ประเภทของชาสามารถแบ่งออกเป็น 4 ประเภทใหญ่ๆ ดังนี้

1. ชาขาว เป็นชาที่ผลิตจากยอดอ่อนของต้นชา มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในใบชามากกว่าชาชนิดอื่นๆ ดังนั้นชาขาวจึงขึ้นชื่อในเรื่องการดื่มเพื่อต้านความแก่ชราก่อนวัย
2. ชาเขียว เป็นชาที่เก็บมาจากยอดอ่อนของชา และนำไปทำการอบแห้งทันที โดยไม่ผ่านกระบวนการหมัก เพื่อป้องกันใบชาเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศ ทำให้ได้ใบชาที่ยังมีสีเขียว มีกลิ่น สีส และรสชาติใกล้เคียงกับธรรมชาติมากที่สุด มีสรรพคุณในด้านการต้านทานโรค
3. ชาอู่หลง เป็นชาประเภทกึ่งหมักหรือชาที่ผ่านการหมักเพียงบางส่วน ทำให้มีสี มีกลิ่นหอม และมีรสชาตินุ่ม คุณสมบัติเด่นๆคือการช่วยดักจับไขมัน และควบคุมน้ำหนัก เนื่องจากชาอู่หลงมีสารชนิดพิเศษที่เรียกว่า OTPs ซึ่งเป็นสารที่เกิดขึ้นจากการหมักใบชาซึ่งมีส่วนช่วยในการลดการดูดซึมไขมันของร่างกาย
4. ชาแดง หรือ ชาดำ เป็นชาที่ผ่านกระบวนการหมักอย่างสมบูรณ์ด้วยวิธีการบ่มแบบอาศัยแบคทีเรียเป็นตัวทำปฏิกิริยา หากยิ่งบ่มนานยิ่งได้รสชาติมากขึ้น สรรพคุณชาดำโดดเด่นในเรื่องช่วยการย่อยอาหาร ลดคอเลสเตอรอล และลดการดูดซึมไขมันในลำไส้

### 2.3.3 สรรพคุณและประโยชน์ของชา (elib.fda.moph.go.th. [Online] 11 ส.ค. 2014)

1. ช่วยกระตุ้นทำให้กระชุ่มกระชวย
2. ช่วยแก้อาการปวดศีรษะ หน้ามืด
3. แก้อาการกระหายน้ำได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารประกอบการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด
6. ช่วยในการย่อยอาหาร
7. ช่วยขับปัสสาวะ
8. ช่วยรักษาอาการปวดเมื่อยตามร่างกายได้ดี
9. ช่วยขับสารพิษออกจากร่างกาย ช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วยชะลอความชรา และมีส่วนช่วยบำรุงผิวพรรณ
10. การดื่มชาที่มีผลต่อระบบต่อมไร้ท่อ และช่วยสลายไขมัน ลดระดับคอเลสเตอรอล โดยไปเพิ่มการขับคอเลสเตอรอลในร่างกายผ่านทางน้ำดีในอุจจาระ
11. ชาที่มีประโยชน์ต่อระบบหัวใจและระบบไหลเวียนโลหิต ช่วยขยายหลอดเลือด ป้องกันโรคเส้นเลือดหัวใจตีบตัน และการดื่มชายังช่วยรักษาอาการเจ็บหน้าอก และกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดได้อีกด้วย

#### 2.3.4 ข้อควรระวังในการดื่มชา (www.manager.co.th. [Online] 12 ส.ค. 2014)

1. การดื่มชาอาจไม่เหมาะสมและอาจทำให้เกิดโทษได้ ได้แก่ ผู้ที่ทำงานบกพร่องหรือมีอาการไตวาย ผู้ที่มีปัญหาเกี่ยวกับกระเพาะอาหารและลำไส้ สตรีที่รับประทานยาคุมกำเนิด สตรีตั้งครรภ์ สตรีให้นมบุตร ผู้ที่เป็นโรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ ผู้ที่มีไข้สูง ผู้ที่เป็นโรคนอนไม่หลับ เด็กที่อายุต่ำกว่า 3 ขวบก็ไม่ควรดื่มชา และโรคหัวใจไม่ควรดื่มชา ไม่ควรดื่มชาเวลาท้องว่างในตอนเช้า เพราะจะทำให้ระบบการย่อยอาหารผิดปกติ แต่ถ้าอยากดื่มชาในตอนเช้าควรหาอะไรกินรองท้องก่อน ผู้ป่วยไตรอยดก็ไม่ควรดื่มชา เพราะอาการกระสับกระส่ายจะยิ่งรุนแรงขึ้น เพราะฤทธิ์ของคาเฟอีน

2. ใบชามีสารออกซาเลต (Oxalate) แม้จะมีอยู่น้อย แต่ถ้าดื่มมาก ๆ และดื่มเป็นประจำสารนี้อาจสะสมในร่างกายและเป็นอันตรายต่อไตได้

3. ไม่ควรดื่มชาขณะกินยา ไม่ว่าจะยาแผนโบราณหรือยาแผนปัจจุบัน เพราะสารต่าง ๆ ในน้ำชาอาจไปทำปฏิกิริยากับยาที่กินเข้าไป เช่น ทำให้คุณสมบัติของยาลดลง หรืออาจกลายเป็นพิษได้ แต่หากต้องการดื่มชาในยามป่วยก็ควรต้องดื่มก่อนหรือหลังกินยาประมาณ 2 ชั่วโมง และให้ชงอ่อนๆ

## 2.4 จุลินทรีย์ที่พบในคอมบูชา (Greenwalt และคณะ, 2000; Liu และคณะ, 1996)

ในการหมักคอมบูชาพบว่าจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมัก คือ แบคทีเรียอะซิติก (acetic acid bacteria) และยีสต์ (yeast) โดยกลุ่มแบคทีเรียที่พบจะเป็นชนิดที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต และสามารถสร้างสารเซลล์ลอสได้ มีลักษณะคล้าย surface mold หรือ mushroom ส่วนกลุ่มยีสต์ที่พบจะเป็นชนิดที่สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีค่าความเป็นกรดสูงจนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยามให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.4.1 แบคทีเรียอะซิติก (acetic acid bacteria)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียอะซิติกจะมีลักษณะเป็นรูปแท่ง (Rod) และทรงกลม (Cocci) มีลักษณะคล้ายกระบองโค้ง มีแฟลกเจลลา (flagella) สำหรับใช้ในการเคลื่อนที่ซึ่งเป็นพวกที่ต้องการออกซิเจน (Aerobic Bacteria) ย้อมติดสีแกรมลบ (Gram negative) ทนทานต่อสภาวะกรดได้ดี มีค่าพีเอชของสารละลายต่ำกว่า 5.0 และสามารถเจริญได้ในพีเอชช่วงต่ำๆ ระหว่าง 3.0-3.5 เช่น *Acetobacter* sp., *Gluconobacter* sp., *Gluconacetobacter* sp. เป็นต้น แบคทีเรียอะซิติกมีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ เอทานอล (Ethanol) ให้เป็นกรดอะซิติก (acetic acid) โดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) ในสภาวะที่มีออกซิเจน



รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะของเชื้อ *Gluconacetobacter*

ที่มา: Scimat. (2016). <http://fineartamerica.com/featured/gluconacetobacter-bacteria-sem-scimat.html> (4 มกราคม 60)

### 2.4.2 ยีสต์ (yeast)

ยีสต์เป็นราเซลล์เดี่ยว มีลักษณะรูปร่างเป็นทรงกลมหรือรี สืบพันธุ์โดยการแตกหน่อ (Budding) ซึ่งยีสต์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักจะมีการสร้างแอสโคสปอร์ (ascospores) เช่น *Saccharomyces* sp., *Candida* sp., *Dekkera* spp., เป็นต้น ในกระบวนการหมักยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้ยังสามารถผลิตกลีเซอรอล กรดอะซิติก กรดอินทรีย์ กรดอะมิโน และแอลกอฮอล์ ได้อีกด้วย ยีสต์สามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีกรดสูง พีเอช 4.0-6.5 และดำรงชีวิตอยู่ได้ในน้ำหมักที่มีค่าความเป็นกรด พีเอช 1.5-3.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะของเชื้อ *Dekkera bruxellensis*

ที่มา: Viticulture & Enology. (2014). [http://wineserver.ucdavis.edu/industry/enology/winemicro/wineyeast/dekkera\\_bruxellensis.html](http://wineserver.ucdavis.edu/industry/enology/winemicro/wineyeast/dekkera_bruxellensis.html) (4 มกราคม 60)

### 2.4.3 กิจกรรมการหมักของแบคทีเรียและยีสต์

กิจกรรมการหมักของแบคทีเรียและยีสต์เป็นแบบพึ่งพาอาศัยกัน เอื้อประโยชน์ต่อกันหรือเรียกกันว่า stable symbiosis โดยเกิดขึ้นภายใต้บริเวณโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นร่างแหเซลลูโลส กิจกรรมการหมักในระยะแรกยีสต์จะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลซูโครสให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ กลูโคส และฟรุกโตส จากนั้นก็จะเปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวให้เป็นแอลกอฮอล์ ทำให้เกิดสภาพที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกลุ่มแบคทีเรีย *Acetobacter* และเกิดการผลิตกรดอะซิติก โดยเฉพาะ *Acetobacter xylinum* ที่สามารถผลิตกรดอะซิติกและกรดกลูโคนิกได้ทั้งสองชนิดรวมกัน สามารถผลิตเซลลูโลสได้ ทำให้ขบวนการที่ได้มีคุณภาพดี ปริมาณกรดอะซิติกที่เพิ่มขึ้น จะแปรผกผันกับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายที่ลดลง ขณะเดียวกันก็จะส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของยีสต์ ทำให้ยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์ได้มากขึ้น ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นสามารถช่วยกระตุ้นให้ *Acetobacter* เจริญและผลิตกรดอะซิติกได้ดีขึ้นเช่นกัน การที่แบคทีเรีย *Acetobacter* สามารถออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ไปเป็น acetaldehyde และสารให้กลิ่นรสอื่นๆ เป็นผลให้ขบวนการหมักมีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่สูงมากนักเมื่อเทียบกับเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ทั่วไป ปกติเครื่องดื่มขบวนการหมักมีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่เกิน 10 กรัมต่อลิตร ปริมาณกรดทั้งหมดมีค่าน้อยกว่า 30 กรัมต่อลิตร หรือประมาณร้อยละ 3 กรดที่พบในขบวนการหมัก ได้แก่ กรดอะซิติก กรดแลคติก กรดกลูโคนิก และกรดกลูคูโรนิก ผลดีของกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในขบวนการหมัก คือ มีคุณสมบัติช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Salmonella typhi*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.5 ประวัติความเป็นมาของสมุนไพร (<http://www.jsppharma.com> [Online] 10 พ.ค. 2017)

### 2.5.1 ความหมายของสมุนไพร

คำว่า สมุนไพร ตามพระราชบัญญัติหมายความถึง ยาที่ได้จากพืช สัตว์ และแร่ ซึ่งยังมีได้มีการผสมปรุงแต่งหรือแปรสภาพ (ยกเว้นการทำให้แห้ง) เช่น พืชก็ยังคงเป็นส่วนของราก ลำต้น ใบ ดอก ผล เป็นต้น ยังไม่ได้ผ่านขั้นตอนการแปรรูปใดๆ เช่น การหั่น การบด การกลั่น การสกัดแยก รวมทั้งการผสมกับสารอื่นๆ แต่ในทางการค้าสมุนไพรมักจะถูกดัดแปลงในรูปแบบต่างๆ เช่น ถูกหั่นเป็นชิ้นเล็กลง บดให้เป็นผงอัดให้เป็นแท่ง หรือปอกเปลือกออก เป็นต้น เมื่อพูดถึงสมุนไพรคนทั่วไปมักจะนึกถึงเฉพาะพืชที่นำมาใช้ประโยชน์ในทางยา ทั้งนี้เพราะสัตว์และแร่มีการใช้น้อยจะใช้เฉพาะในโรคบางชนิดเท่านั้น

### 2.5.2 ขิง (Ginger)



รูปที่ 2.4 เหง้าขิงสด

ขิง เป็นพืชที่มีความสำคัญทางอาหารเนื่องจากมีธาตุฟอสฟอรัสและวิตามินเอสูง และยังช่วยในการปรับปรุงรสชาติอาหาร มีสารที่พบในขิง คือ น้ำมันหอมระเหย น้ำมันระเหยง่าย และมีสารแอนตี้อิสตามีน แก๊ลดน้ำมูก เจ็บคอ คนโบราณนำส่วนต่างๆ ของขิง ได้แก่ แก่งขิง เปลือกขิง น้ำมันหอมระเหย และใบสดมาใช้เป็นยาสมุนไพร เพื่อรักษาโรคชนิดต่างๆ (ไฉน, 2542) ตัวอย่างสายพันธุ์ขิง เช่น ขิงพันธุ์ไทย ขิงพันธุ์จามัก้า ขิงพันธุ์อินเดีย เป็นต้น

#### 2.5.2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของขิง

ขิง เป็นพืชไร่และยังจัดเป็นพืชผักประเภทหนึ่งชนิดล้มลุก ลำต้น มีลำต้นใต้ดินเรียกว่า เหง้า หรือแก่ง (Rhizome) เจริญขึ้นเป็นกอ ลำต้นแท้มีลักษณะเป็นข้อๆ แข็ง มีสีเขียวหรือเหลืองอ่อน มีเยื่อและเกล็ดเล็กๆ ห่อหุ้ม จะแตกชานไปกับพื้นดิน ลักษณะการแตกแขนงเป็นแบบนิ้วมือ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือ แง่อันแรกจะเจริญและแตกแง่อย่อยๆ ต่อกันไป เหง้าหรือลำต้นใต้ดินนี้สามารถดำรงชีวิตข้ามฤดูหรือหลายฤดู ซึ่งต่างจากลำต้นเหนือดินที่มีอายุได้เพียงฤดูเดียว หรือประมาณ 8-12 เดือน ลำต้นส่วนเหนือดินเป็นลำต้นเทียม (Clump) ส่วนนี้ประกอบด้วยกาบใบซ้อนทับกันหลายๆ ชั้น เจริญจากตาที่ปรากฏอยู่บนแงของขิง ลำต้นมีความสูง ประมาณ 50-100 เซนติเมตร

#### 2.5.2.2 ประโยชน์ของขิง

1. ลดอาการท้องอืด เนื่องจากกระตุ้นการทำงานของลำไส้
2. ช่วยบรรเทาอาการไมเกรน ช่วยรักษาอาการไซซ้ออักเสบ
3. ช่วยบรรเทาอาการคลื่นไส้
4. ช่วยลดน้ำตาลในเลือด
5. ลดระดับไขมันคลอเลสเตอรอล
6. บรรเทาปวดลดไข้, ลดอาการเวียนศีรษะ
7. ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

#### 2.5.3 สะระแหน่ (Kitchen mint)



รูปที่ 2.5 สะระแหน่

พืชผักพื้นเมืองของไทยชนิดหนึ่งแต่มีหลายสายพันธุ์ที่พบแพร่กระจายในประเทศเขตอบอุ่นทั่วโลก ซึ่งถือเป็นผักสมุนไพรที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์มาก โดยเฉพาะใบสะระแหน่ที่นิยมใช้ทั้งใบสดมาเป็นส่วนผสมของอาหารและที่สำคัญ คือ ใบสดถูกนำมาสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหยที่มีบทบาทมากในวงการอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และยารักษาโรค

##### 2.5.3.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสะระแหน่

สะระแหน่ มีลักษณะลำต้นพร้อมเลื้อย มีเฉพาะรากฝอย ขนาดเล็ก และสั้น ลำต้นสูงประมาณ 15-30 เซนติเมตร ลำต้นมีลักษณะเป็นเหลี่ยม ผิวลำต้นมีสีแดงอมม่วงจนถึงปลายยอด

เอนกสำเนาเป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อประโยชน์ของสังคม มิใช่เพื่อจำหน่ายหรือเพื่อประโยชน์ทางการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำต้นสามารถแตกเหง้าเป็นต้นใหม่จนขยายเป็นกอใหญ่ ใบเดี่ยวมีสีเขียว ขอบใบหยักเป็นฟันเลื่อย พื้นใบขรุขระ มีกลิ่นหอมฉุน ดอกช่อออกเป็นกระจุกที่ซอกใบ

### 2.5.3.2 ประโยชน์ของสระแหน่

1. ช่วยให้สดชื่น แก้อาการวิงเวียนศีรษะ
2. น้ำมันหอมระเหยใช้ผสมในอาหารเพื่อยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ทำให้อาหารเก็บไว้ได้นาน รวมทั้งเพื่อปรับปรุงกลิ่นของอาหารให้มีกลิ่นหอมน่ารับประทานมากขึ้น
3. น้ำมันหอมระเหยใช้ทาหนวด แก้อาการปวดเมื่อย
4. รักษาอาการท้องอืด ลดอาการเรอ อาหารไม่ย่อย
5. ต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันโรคมะเร็ง
6. ต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ลดอาการอักเสบของแผล ทำให้แผลแห้งและหายเร็ว

### 2.5.3.3 สารสำคัญที่พบในสระแหน่ (เกวลิน, 2555)

ปริมาณน้ำมันหอมระเหยสระแหน่ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์

|                                |                                 |
|--------------------------------|---------------------------------|
| <i>Haemophilus influenza</i>   | - 12.5 มิลลิกรัมต่อลิตร         |
| <i>Staphylococcus aureus</i>   | - 25 มิลลิกรัมต่อลิตร           |
| <i>Escherichia coli</i> NIHJ   | - มากกว่า 1600 มิลลิกรัมต่อลิตร |
| <i>Staphylococcus aureus</i>   | - 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร     |
| <i>Escherichia coli</i>        | - 4.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร     |
| <i>Salmonella typhi</i>        | - 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร       |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | - 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร        |
| <i>Staphylococcus aureus</i>   | - 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร        |
| <i>Escherichia coli</i>        | - ร้อยละ 2                      |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>  | - ร้อยละ 4                      |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.5.4 เก๋ากี้ (Goji berry)



รูปที่ 2.6 ผลเก๋ากี้สด

ที่มา: [http://www.xn--12cg1cxchd0a2gzc1c5d5a.net/%E0%B5%E0%B9%89/\(4 มกราคม 60\)](http://www.xn--12cg1cxchd0a2gzc1c5d5a.net/%E0%B5%E0%B9%89/(4%20มกราคม%2060))

เก๋ากี้ (Goji berry) หรือ *Lycium barbarum* นั้นเป็นเม็ดเล็กๆ สีแดงอยู่ในตระกูลเดียวกับกับเบอร์รี่ โดยชาวจีนจะนิยมนำไปรับประทานร่วมกับยาจีน ซึ่งถือว่าเป็นยาบำรุงชั้นเยี่ยมที่มีค่า ORAC ที่สามารถดูดซับอนุมูลอิสระในออกซิเจนได้ถึง 25,300 หน่วย ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาในร่างกายเราเองหรืออาจเกิดจากปัจจัยภายนอกอย่างควันพิษจากท่อไอเสียรถยนต์ หรือควันจากบุหรี่ เป็นต้น ซึ่งเป็นสาเหตุของความเสื่อมในร่างกาย ทั้งความชราก่อนวัยอันควร หรือโรคมะเร็งต่างๆ มีสารพลาโวนอยด์ที่ช่วยให้เม็ดเลือดแดงไม่ถูกอนุมูลอิสระทำลาย ในเก๋ากี้ยังมีวิตามินซีสูงกว่าส้มถึง 500 เท่า มีเบต้าแคโรทีนสูงกว่าแครอท มีใยอาหารสูงถึงร้อยละ 20 และมีแคลเซียมสูงกว่าในผักบล็อกโคลีน นอกจากนี้ยังมีเหล็ก ทองแดง วิตามินเอ วิตามินบี 2 ฟอสฟอรัส สังกะสี เจอร์มาเนียม เซเลเนียม เป็นต้น



รูปที่ 2.7 เม็ดเก๋ากี้แห้ง

ที่มา: [https://www.google.co.th/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKewim6anA2ajRAhXLo48KHUTJD2YQjB0IBg&url=http% \(4 มกราคม 60\)](https://www.google.co.th/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKewim6anA2ajRAhXLo48KHUTJD2YQjB0IBg&url=http%20(4%20มกราคม%2060))

### 2.5.4.1 ลักษณะทั่วไปของเก๋ากี้

เก๋ากี้จัดอยู่ในวงศ์ Solanaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับพริก มะเขือเทศ หรือมันเทศ มีผลแห้งคล้ายลูกเกด มีสีแดง รสชาติไม่หวานเท่ากับลูกเกด แต่ก็ไม่เปรี้ยวเหมือนแคนเบอร์รี่ราคาไม่ต่ำกว่าหมื่นบาท ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำต้นมีความสูงประมาณ 12 ฟุต โดยต้นแก่ก็นั้นแม้จะอยู่ในสภาพอากาศที่เลวร้ายก็ยังคงสามารถมีอายุยืนได้เป็นร้อยปีเลยทีเดียว โดยมีสายพันธุ์ต่างๆ มากถึง 41 ชนิดที่ปลูกในทิเบต และด้วยความที่มีคุณประโยชน์และสารอาหารมากมายของแก่กั๊กนี้ทำให้เป็นที่ต้องการของตลาดโลกจนถึงกับได้รับฉายาว่า “แก่กั๊ก คือสมุนไพรรักษาอายุยืนยาว”

#### 2.5.4.2 ประโยชน์ของแก่กั๊ก

1. บำรุงร่างกายให้แข็งแรง
2. แก้อาการอ่อนเพลีย ช่วยให้ร่างกายสดชื่นกระปรี้กระเปร่า
3. ช่วยให้หัวใจแข็งแรงทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ
4. ช่วยให้กระดูกและกล้ามเนื้อแข็งแรง
5. ช่วยในการต้านมะเร็ง และหยุดการเติบโตของเซลล์มะเร็ง
6. ลดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวาน
7. ลดความดันโลหิต ไขมันในเลือดไม่อุดตัน

## 2.6 การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Antimicrobial) (<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0429/pathogen> [Online] 10 พ.ค. 2017)

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กมีหลายชนิด ส่วนมากมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า พบได้ทั้งในดิน ในน้ำ ในอากาศ และในร่างกายของสิ่งมีชีวิตอื่นที่ไม่ใช่จุลินทรีย์ ดำรงชีวิตแบบผู้ผลิต ผู้ย่อยสลาย และปรสิต มนุษย์ใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์มาตั้งแต่สมัยโบราณจนถึงปัจจุบัน เช่น ใช้ถนอมอาหาร ผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ใช้เป็นเชื้อเพลิง ใช้เป็นยารักษาโรคบางชนิด เป็นต้น แต่จุลินทรีย์บางชนิดที่ปนเปื้อนในอาหารทำให้อาหารเน่าเสีย เกิดโรคหรือโรคติดต่อได้ เช่น เชื้ออหิวาต์ ไวรัสตับอักเสบบี เชื้อบิดมีตัวหรือไม่มีตัว ไทฟอยด์หรือใช้รากสาต ซาลโมเนลลา (*Salmonella*) คลอสทริเดียมบูโกลินัม (*Clostridium botulinum*) เป็นต้น การปนเปื้อนของจุลินทรีย์เกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น ปนเปื้อนตอนเป็นวัตถุดิบ การผลิต การบรรจุ การขนส่ง เมื่อผู้บริโภคทานเข้าไปจะก่อให้เกิดโรค เกิดพิษ เกิดความเสียหายที่จะเป็นโรคบางชนิด ดังนั้นผู้ผลิตหรือผู้ประกอบการจึงควรระมัดระวังให้สะอาดและปลอดภัยทุกขั้นตอนการผลิต เพื่อสุขภาพที่ดีของตนเองและผู้บริโภค

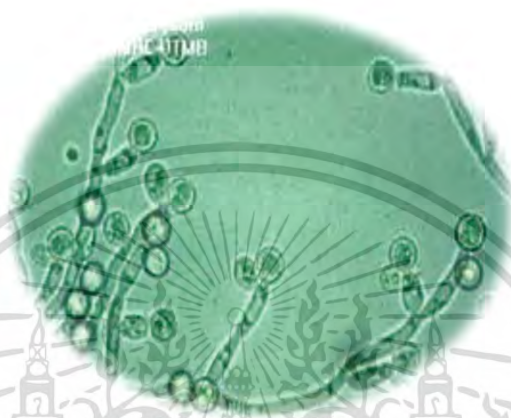
### 2.6.1 จุลินทรีย์ก่อโรค

จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคในมนุษย์และสัตว์ สาเหตุสำคัญของโรค คือ อาหาร ซึ่งถือเป็นสื่อกลางที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ที่เป็นอันตรายในอาหาร (food hazard) ได้แก่ แบคทีเรีย รา ไวรัส และ ปรสิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.6.1.1 *Candida albicans*

*Candida* เป็นราประเภทยีสต์ที่แตกต่างจากยีสต์โดยทั่วไป คือ มีความสามารถในการสร้าง เส้นใย (hyphae) และ เส้นใยเทียม (pseudohyphae) บางครั้งอาจเรียกว่า yeast-like fungi ไม่เหมือนกับรากลุ่ม dimorphic fungi ซึ่งมีเพียงสองรูปร่าง และการมีรูปร่างแบบสาย หรือ แบบยีสต์นั้นจะต้องมีปัจจัยอื่นเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย เช่น อุณหภูมิ สำหรับ *Candida* นั้นสามารถมีได้หลายรูปร่างไม่ขึ้นกับอุณหภูมิ



รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะของเชื้อ *Candida albicans*

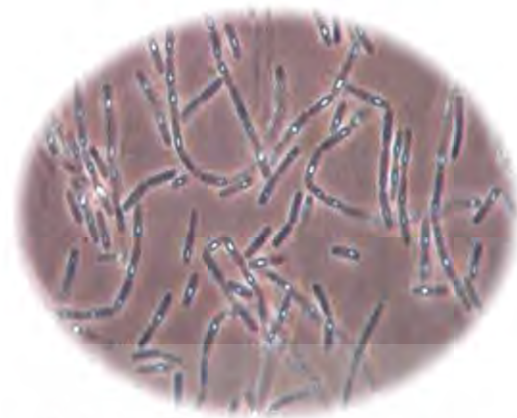
ที่มา: [https://th.wikipedia.org/wiki/Candida\\_albicans#/media/File:Candida\\_albicans\\_PHIL\\_3192\\_lores.jpg](https://th.wikipedia.org/wiki/Candida_albicans#/media/File:Candida_albicans_PHIL_3192_lores.jpg) (6 มกราคม 60)

ลักษณะที่พบเป็นเชื้อยีสต์ที่มีขนาดตั้งแต่ 3-7 ไมครอน เพิ่มจำนวนด้วยการแตกหน่อ (budding) ความสามารถในการแตกหน่อขึ้นกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนที่ 37 องศาเซลเซียส ลักษณะของเส้นใย (hypha) เป็นแบบมีผนังกันขวาง (septate hyphae) ขนาดความกว้าง 4-8 ไมครอน เชื้อนี้สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็นแบบเส้นใยเทียม (pseudohypha) โดยมีปัจจัยเกี่ยวข้องหลายอย่าง เช่น สภาพแวดล้อมในเนื้อเยื่อที่มันอยู่ระดับความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณและชนิดของสารอาหาร โรคที่เกิดจาก *Candida albicans* โดยเฉพาะผู้ป่วยโรคเอดส์ มักจะติดเชื้อรา *Candida albicans* ที่ปาก ส่วนมากเป็นผู้ป่วย HIV ขั้นสุดท้าย อาการที่พบ คือ เป็นฝ้าขาว ฝ้าแดง ปากนกกระจอก กลิ่นลำบาก เจ็บคอ ฝ้าขาวที่คอ ลิ้น อาการที่เป็นที่ช่องคลอด คือ ตกขาว มีอาการคันช่องคลอด เป็นๆ หายๆ และยังไม่มียวิธีป้องกันการรับเชื้อ

### 2.6.1.2 *Bacillus cereus*

แบคทีเรียในกลุ่มของ *Bacillus* เป็นแบคทีเรียชนิดที่ก่อให้เกิดโรค (pathogen) ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) สามารถสร้างสารพิษ (toxin) ที่ทนต่อความร้อนได้ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง ในร่างกายมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 28-37 องศาเซลเซียส เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส ไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส และสูงกว่า 55 องศาเซลเซียส



รูปที่ 2.9 แสดงลักษณะของเชื้อ *Bacillus cereus*

ที่มา: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1116/bacillus-cereus>

(6 มกราคม 60)

ลักษณะที่พบเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) สร้างสปอร์ (spore forming bacteria) เจริญได้ดีทั้งในสภาพมีอากาศและไม่มีอากาศ ส่วนใหญ่การปนเปื้อนมักเกิดจากสปอร์ปนเปื้อนลงไปในห้องโซอาหารที่ได้รับการปรุงไม่เหมาะสม เมื่อสปอร์เจริญเป็น vegetative cell จะสร้างสารพิษ (enterotoxin) ซึ่งเป็นสารพิษประเภทโปรตีนที่ถูกสร้างโดยจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กตอนล่าง มักเป็นพิษต่อเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ ส่วนใหญ่เป็นสารพิษที่ขับออกมาโดยแบคทีเรียที่ไปทำให้เกิดรูพรุนในเซลล์เมมเบรน มีผลทำให้เซลล์ตาย หลังจากเซลล์บุผนังลำไส้เล็กตาย ของเหลวต่างๆ จึงไหลออกมาทำให้เกิดอาการท้องร่วง ตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่สร้าง enterotoxin ได้แก่ *E. coli* 0157:H7, *Clostridium perfringens*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Rota virus* และ *Yersinia enterocolitica* ปริมาณที่ก่อโรคได้คือ มากกว่า  $10^6$  เซลล์ต่อกรัมอาหาร ซึ่งโรคที่เกิดจาก *Bacillus cereus* ส่วนมาก คือ โรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ซึ่งมีอาการ 2 ลักษณะ คือ อาการอาเจียน (Emetic syndrome) เกิดจากที่ร่างกายได้รับสารพิษ (intoxication) ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นในอาหารก่อนที่จะบริโภคเข้าไป ซึ่งสารพิษนี้ทนต่ออุณหภูมิสูงและทนต่อความเป็นกรดในกระเพาะอาหารได้ดี ผู้ป่วยจะเกิดอาการคลื่นไส้และอาเจียนภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไปประมาณ 5 ชั่วโมง โดยทั่วไปอาการเป็นอยู่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง โรคอาหารเป็นพิษลักษณะนี้ มักเรียกว่า Chinese restaurant syndrome เนื่องจากมักพบในผู้ป่วยรับประทานอาหารจีน ซึ่งมักเป็นข้าวผัดที่ทำจากข้าวสุกที่หุงค้างไว้นาน ทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโตและสารพิษทนต่อความร้อน ก่อนนำมาปรุงหรือทำให้ร้อนใหม่ และอาการถ่ายเหลว (Diarrhea syndrome) เกิดขึ้นจากการบริโภคอาหารที่มีเซลล์ของแบคทีเรีย และเพิ่มจำนวนในลำไส้ของมนุษย์ ใช้เวลาฟักตัวประมาณ 8-16 ชั่วโมง มีสารพิษเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ที่ไม่ทนต่อความร้อน ทำให้เกิดอาการการปวดท้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นตะคริวที่ท้อง และถ่ายอุจจาระเหลวโดยทั่วไปอาการเป็นอยู่ไม่เกิน 14 ชั่วโมง ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (infective dose) 100-100,000 เซลล์ต่อกรัม

### 2.6.1.3 *Listeria monocytogenes*

เชื้อ *Listeria* สามารถพบได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วไปได้อย่างกว้างขวางเนื่องจากสามารถทนทานต่อสภาวะต่างๆ ในสิ่งแวดล้อมได้ดี เช่น ในสภาวะอาหารที่เป็นกรด (acid food) ในอาหารที่มี water activity ต่ำ และในสภาวะอุณหภูมิที่ค่อนข้างกว้างตั้งแต่ระดับอุณหภูมิในร่างกายจนถึงอุณหภูมิในตู้เย็น (psychrotrophic)



รูปที่ 2.10 แสดงลักษณะของเชื้อ *Listeria monocytogenes*

ที่มา: <http://www.monografias.com/trabajos89/listeria-monocytogenes/listeria-monocytogenes.shtml> (6 มกราคม 60)

ลักษณะที่พบ เป็นรูปท่อนสั้น เรียงตัวต่อกันเป็นสายยาว 3-5 เซลล์ หรือมากกว่านั้น เซลล์อายุ 18-24 ชั่วโมง ไม่สร้างสปอร์หรือแคปซูล สามารถเจริญเติบโตได้ทุกอุณหภูมิ ต่ำสุดอยู่ที่ 2.5 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต คือ 37 องศาเซลเซียส สามารถทนความร้อนได้ดี โดยทั่วไป *Listeria monocytogenes* จะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) และติดต่อผ่านทางอาหาร ทำให้เกิดโรคลิสเทอริโอสิส (Listeriosis) โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) การติดเชื้อในกระแสเลือด (septicemia) และการแท้ง (abortion) ส่วนมากพบในผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันอ่อนแอ หรือทารกที่เกิดจากมารดาที่ได้รับเชื้อขณะตั้งครรภ์ โดยอัตราของผู้ป่วยมีโอกาสเสียชีวิตสูงถึงร้อยละ 20-30 วิธีระบาดของเชื้อมีเกิดขึ้นได้หลายทาง เช่น จากแม่สู่ลูก จากสัตว์สู่คน และจากโรงพยาบาล

### 2.6.1.4 *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสจะมีการติดเชื้อมักกับผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วยมากๆ ผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล บางทีจึงเรียกโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อนี้ว่า "โรงพยาบาล" หมายความว่าคนไข้ที่ป่วยในโรงพยาบาลมักจะติดเชื้อนี้ได้ง่ายกว่าคนทั่วไป

*Pseudomonas aeruginosa* ว่าโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล ซึ่ง *Pseudomonas aeruginosa* เป็นสาเหตุอันดับสองในการทำให้เกิดโรคปอดบวมในโรงพยาบาล และเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ในการก่อให้เกิดโรคปอดบวม ในห้อง ICU โดยสามารถแพร่กระจายได้ผ่านทางบุคลากร อุปกรณ์การแพทย์ ผิวหนัง น้ำยาฆ่าเชื้อ และอาหาร โรคติดเชื้อนี้เป็นปัญหาที่รุนแรงมากในโรงพยาบาล เนื่องจากผู้ป่วยที่มีอาการหนักจะเสียชีวิตจากการติดเชื้อ และที่สำคัญคือ *Pseudomonas* ตื้อต่อยาปฏิชีวนะทำให้ยากต่อการรักษา



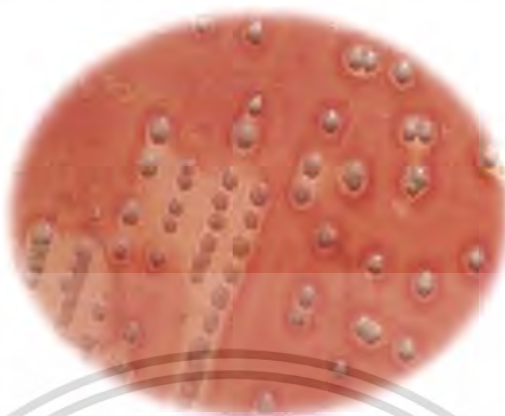
รูปที่ 2.11 แสดงลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*  
ที่มา: [http://110.164.68.234/news\\_raja/index.php?mode=topicshow&tp\\_id=1468](http://110.164.68.234/news_raja/index.php?mode=topicshow&tp_id=1468) (6 มกราคม 60)

ลักษณะที่พบ เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแท่ง เจริญในสภาวะไร้อากาศ (aerobic) เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Pseudomonadaceae สามารถเคลื่อนที่ได้โดย flagellum 1 เส้นที่ติดอยู่ตรงหัวปกติจะพบกระจายในดิน น้ำ ชยะ หรือในพืช และเป็น normal flora ในลำไส้คน *Pseudomonas aeruginosa* สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ รวมทั้ง สัตว์ แมลง และต้นไม้บ้างเล็กน้อย โดย *Pseudomonas aeruginosa* สามารถติดเชื้อได้หลายระบบในร่างกายเนื่องจากมีหลายปัจจัยในการก่อให้เกิดทั้งความสามารถในการเกาะยึดติดกับเยื่อผิว การดื้อต่อยาปฏิชีวนะ การสร้างโปรตีนที่มาทำลายเนื้อเยื่อ และมี protective outer coat ตัวอย่างของโรคที่เกิด เช่น การติดเชื้อในกระแสเลือด ซึ่งจะเกิดกับผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดและผู้ที่ติดเชื้อในบริเวณอื่นของร่างกาย *Pseudomonas aeruginosa* จะมีการติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจ ในผู้ติดยาที่ฉีดยาเข้าเส้นเลือดดำหรือผู้ที่ใช้ลิ้นหัวใจเทียมจะมีความเสี่ยงในการติดเชื้อที่กระดูกและข้อต่อ เป็นต้น การติดเชื้อในส่วนนี้อาจเกิดจากการบาดเจ็บหรือมีการแพร่กระจายของเชื้อมาจากเนื้อเยื่ออื่นหรือการติดเชื้อในกระแสเลือด

#### 2.6.1.5 *Staphylococcus aureus*

แบคทีเรียชนิด facultative anaerobic แกรมบวก รูปร่างกลม เป็นส่วนหนึ่งของเชื้อเอกซาลูลินทรีย์ที่เป็นเชื้อประจำถิ่นในผิวหนังและโพรงจมูก เป็นแบคทีเรียก่อโรคชนิดหนึ่ง เมื่อ *S. aureus* คร่าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปนเปื้อนลงไปในอาหารจะสามารถสร้างสารพิษที่เรียกว่าเอนเทอโรทอกซินขึ้น ซึ่งแบ่งออกเป็น 8 ชนิด ได้แก่ ชนิด A, B, C1, C2, C3, D, E และ H สารพิษนี้ทนต่อความร้อนได้ดีมาก ลักษณะที่พบเป็นโคโลนีสีเหลือง



รูปที่ 2.12 แสดงลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ที่มา: [https://th.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus\\_aureus#/media/](https://th.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus#/media/File:S_aureus_blood_agar.jpg)

File:S\_aureus\_blood\_agar.jpg (6 มกราคม 60)

ลักษณะที่พบ เป็นพวกที่ปรับตัวอาศัยเฉพาะในสัตว์บางชนิด ประมาณครึ่งหนึ่งของ species ที่รู้จักพบอยู่ในคนเท่านั้น เช่น *S. cohnii* spp. พบตามผิวหนัง ทางเดินปัสสาวะและบาดแผล หรือชนิดที่อาศัยอยู่ในคนและสัตว์ด้วย เช่น *S. aureus* ซึ่งพบเซลล์ของเชื้อชนิดนี้จำนวนมากใกล้บริเวณเปิดของผิวหนัง สัตว์เลี้ยงจำนวนมากเป็นแหล่งของ *S. aureus* เช่น วัว นมดิบอาจปนเปื้อนเชื้อจากวัวที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ ถ้าดื่มนมหรือนมหรือน้ำแข็งที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อนจะมีโอกาสเกิดโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อนี้ได้มาก การปนเปื้อนในอาหารโดยทั่วไปพบเชื้อชนิดนี้ปริมาณต่ำ ในอาหารชนิดใดก็ตามที่ผลิตมาจากสัตว์ หรืออาหารที่สัมผัสโดยมือคน ถ้าอาหารนั้นไม่ได้ผ่านความร้อนที่มีผลทำลายเซลล์ของแบคทีเรียชนิดนี้

#### 2.6.1.6 *Salmonella typhimurium*

จัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae เจริญได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนสามารถฟอर्मেন্টน้ำตาลกลูโคสและเพนโตสได้กรด บางครั้งได้ก๊าซด้วย แต่ไม่สามารถฟอर्मেন্টน้ำตาลแล็กโทสและซูโครสได้ ให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์หรือก๊าซจากการฟอर्मেন্টคาร์โบไฮเดรต เจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา เชื้อส่วนใหญ่ไม่ต้องการวิตามินหรือกรดอะมิโนยกเว้นเชื้อไทฟอยด์ บางชนิดต้องการทริปโทเฟน นอกจากนี้ยังทนต่อสารเคมีบางอย่าง เช่น บรินเลียนกรีน (brilliant green) โซเดียมเตตราไทโอเนต (sodium tetrathionate) โซเดียมดีออกซีโคเลต (sodium deoxycholate) ซึ่งยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อพวกโคลิฟอร์ม จึงใช้เป็นหลักในการแยกจากเชื้ออุจจาระ ดิดีสแกรมลบ และแตกต่างจากสมาชิกตัวอื่นในตระกูลนี้ตรงที่มีสมบัติทิงเคมี และราคาไม่แพงเกินไป ทุกสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างแอนติเจนที่แตกต่างออกไป ถิ่นที่อยู่ของเชื้อนี้คือลำไส้ของคนและสัตว์ และทำให้เกิดโรคในคนและต่าง ๆ ได้ เชื้อ *Salmonella* มีการแยกเชื้อได้ครั้งแรก โดยแยกเชื้อจากสุกร



รูปที่ 2.13 แสดงลักษณะของเชื้อ *Salmonella typhimurium*

ที่มา : <http://mic011-it15.blogspot.com/p/salmonella.html> (6 มกราคม 60)

ลักษณะที่พบ เป็นท่อนสั้นมีขนาด  $0.6 \times 10^{-3}$  ไมโครเมตร จุลินทรีย์สายพันธุ์นี้เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลล์ ไม่มีแคปซูล และไม่มีสปอร์ ดำรงชีวิตเป็นแบบ facultative anaerobic สามารถเจริญในอาหารที่ค่อนข้างธรรมดาได้ โรคและอาการของโรคที่เกิดจาก *Salmonella typhimurium* โดยทั่วไปก่อโรคในคนเท่านั้น แต่ *Salmonella* ส่วนใหญ่ก่อโรคในสัตว์ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่แพร่มาสู่คน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น สายพันธุ์ของเชื้อ ภูมิคุ้มกันของโฮสต์ ความเป็นกรดของกระเพาะอาหาร จุลชีพประจำถิ่นในลำไส้ เป็นต้น อาการของโรคติดเชื้อมาจาก *Salmonella* มี 3 ลักษณะดังนี้

1. ไข้เอนเทอริก ไข้ไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์ (enteric fevers : typhoid and paratyphoid) ไข้ไทฟอยด์มีสาเหตุจากเชื้อ *Salmonella typhi* ส่วนพาราไทฟอยด์มีสาเหตุจากเชื้อ *S. paratyphi* A, B และ C อาการของโรคคล้ายกัน แต่ไข้พาราไทฟอยด์หรือไข้รากสาดเทียม มีความรุนแรงน้อยกว่า และมีอาการอ่อนกว่าไข้ไทฟอยด์ คือ พาราไทฟอยด์มีระยะฟักตัว 1-10 วัน มีอาการโลหิตเป็นพิษเนื่องจากเชื้อเข้าสู่กระแสเลือด (bacteremia) ในตอนแรกมักมีไข้อยู่ 1-3 สัปดาห์ไม่ค่อยมีผื่น ส่วนไข้พาราไทฟอยด์มีระยะฟักตัวของโรค 10-14 วัน มีไข้สูงตลอด ปวดศีรษะ ท้องผูก อ่อนเพลียในสัปดาห์แรก อาจมีผื่นขึ้นตามลำตัว หัวใจเต้นช้ากว่าปกติ ปวดกล้ามเนื้อ ไข้จะสูงตลอดเวลา (39.5-40 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7-10 วัน และลดลงในสัปดาห์ที่ 3 หรือ 4 ดับและม้ามโต เม็ดเลือดขาวลดน้อยลง อุจจาระมีเลือดปนออกมาด้วย

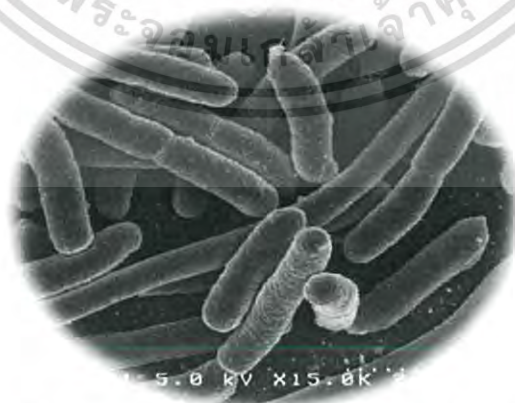
2. ลำไส้อักเสบ เกิดจากเชื้อ *Salmonella* หลายซีโรไทป์ด้วยกัน บางชนิดทำให้เกิดโรคในสัตว์เลือดอุ่นรวมทั้งมนุษย์ เชื้อสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคลำไส้อักเสบ ได้แก่ *S. typhimurium* และ *S. enteridis* ระยะฟักตัวของเชื้อโรค กินเวลา 12-24 ชั่วโมง หรือมีอาการหลังจากที่กินอาหารที่ไม่ว่ากรณิใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีเชื้อปะปน 8-48 ชั่วโมง อาการของโรค คือ ปวดศีรษะรุนแรง คลื่นไส้ อาเจียน อุจจาระร่วงรุนแรง ปวดท้อง มีไข้ต่ำ มักเป็นอยู่ 2-5 วัน อาจจะปล่อยเอนเทอโรทอกซินออกมา ทำให้ถ่ายอุจจาระเหลว มีมูกเลือด เม็ดเลือดขาวปนออกมา ไม่พบเชื้อในเลือดแต่จะพบในอุจจาระ

3. โลหิตเป็นพิษ (Septicemia) การติดเชื้อ *Salmonella* ในกระแสเลือดมักเกิดจาก *S. choleraesuis* เป็นส่วนใหญ่ แต่ก็อาจเกิดจากเชื้อซีโรไทป์อื่นก็ได้ เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะไปเจริญในกระแสเลือด เพิ่มจำนวนขึ้นจึงทำให้คนไข้มีไข้สูง หนาวสั่น เบื่ออาหาร น้ำหนักตัวลดลง การแยกเชื้อจะพบเชื้อในกระแสเลือดเท่านั้น มักไม่พบเชื้อในอุจจาระ โรคนี้จะเป็นอย่างยาวนานจนเรื้อรัง แบคทีเรียในเลือดจะกระจายไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย ทำให้เยื่อหุ้มสมองอักเสบ ปอดอักเสบ ไตอักเสบ เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ ไชกระดูกและกระดูกอักเสบ

#### 2.6.1.7 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* หรือเรียกโดยย่อว่า *E. coli* (อี. โคลิ) เป็นแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์ม เป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำ มีอยู่ตามธรรมชาติในลำไส้ใหญ่ของสัตว์และมนุษย์ แบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอาการท้องเสียบ่อยที่สุด ทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ ทำให้ถ่ายอุจจาระเหลว หรือเป็นน้ำ แต่อาการมักไม่รุนแรง เพราะทั้งเด็กและผู้ใหญ่มักมีภูมิคุ้มกันอยู่บ้างแล้ว เนื่องจากได้รับเชื้อนี้เข้าไปทีละน้อยอยู่เรื่อยๆ เชื้อนี้มักปนเปื้อนมากับอาหาร น้ำ หรือ มือของผู้ประกอบอาหาร ปกติเชื้อเหล่านี้อาจพบในอุจจาระได้อยู่แล้วแม้จะไม่มีอาการอะไร มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น พม่า ไทย ลาว กัมพูชา อินโดนีเซีย เป็นต้น ลักษณะที่พบเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) ไม่สร้างสปอร์เป็น facultative anaerobe เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae และเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliform) ประเภท fecal coliform ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขภาพของอาหารและน้ำ



รูปที่ 2.14 แสดงลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli*

ที่มา : [https://en.wikipedia.org/wiki/Escherichia\\_coli](https://en.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli) (6 มกราคม 60)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## โรคและอาการของโรคที่เกิดจาก *E.coli*

*E.coli* ส่วนใหญ่ไม่ใช่จุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) แต่บางชนิดที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) หรือเรียกว่า Enterovirulent *Escherichia coli* group (EEC group) มี 4 ประเภทคือ

1. Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) ซึ่งทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ อาการทั่วไปคือ ท้องร่วง ปวดท้อง ไข้ต่ำ คลื่นไส้ และ อ่อนเพลีย การติดเชื้อหรือแสดงอาการต่อเมื่อได้รับเชื้อเข้าไปประมาณ 100 ล้าน ถึง 10 พันล้านเซลล์ โดยระหว่างการเจริญจะสร้างสารพิษที่ทำให้เกิดการหลั่งของของเหลว (fluid secretion) แหล่งที่พบคือน้ำที่ปนเปื้อน แล้วไปปนเปื้อนต่อในอาหาร หรือจากคนป่วยที่สัมผัสหรือปรุงอาหาร ถ้ารับเชื้อเข้าไปมาก จะมีอาการภายใน 24 ชั่วโมง
2. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) EPEC แพร่ไปในคนและสัตว์หลายชนิด เช่น วัวควาย และหมู มักเป็นโรคที่เป็นกับเด็ก ทำให้อุจจาระร่วงเป็นน้ำหรือเป็นเลือด คล้ายกับอาการที่เกิดจากเชื้อ *Shigella* ซึ่งเรียกว่า ชิกะทอกซิน (shigatoxin) ด้วยเช่นกัน ปริมาณเชื้อที่ก่อโรค อาจพบในปริมาณต่ำ อาหารที่พบเชื่อนี้ คือ เนื้อวัว เนื้อไก่ดิบ และจากน้ำปนเปื้อนที่นำมาขงนมให้เด็ก และหากเด็กติดเชื้อนี้อาจทำให้เกิดการขาดน้ำ
3. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) หรือ *E. coli* 0157:H7 เป็นประเภท verotoxin ที่คล้ายกับ shigatoxin ที่สร้างโดย *Shigella dysenteriae* ทำให้เกิดความเสียหายให้แก่เยื่อของลำไส้ ความรุนแรงคือทำให้เกิดลำไส้ใหญ่อักเสบจนตกเลือด (hemorrhagic colitis) อาการคือ ปวดท้องรุนแรง อุจจาระร่วงเป็นตอนแรก แต่กลายเป็นมูกเลือดต่อมา อาจมีอาเจียนบ้าง และมีไข้ต่ำหรือไม่มี อาหารที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ เนื้อบดหรือแฮมเบอร์เกอร์ดิบหรือไม่ค่อยสุก นอกจากนี้ยังอาจพบในหน่ออัลฟัลฟา น้ำผลไม้ที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ไส้กรอกหมูปนเนื้อวัว (dry-cured salami) ผักกาดหอม เนื้อสัตว์ป่า (game meat) และนํ้านมดิบ
4. Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) ทำให้เกิดอาการคล้ายของโรคบิดจากเชื้อ *Shigella dysenteriae* หรือบิดมีตัว (bacillary dysentery) ทำให้ท้องร่วงโดยมีเลือดหรือมูกในอุจจาระของผู้ที่ติดเชื้อ

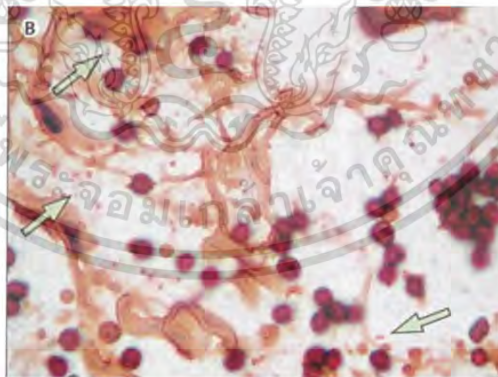
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.6.1.8 *Vibrio parahaemolyticus*

ในประเทศไทยเชื้อนี้เป็นสาเหตุอันดับ 1 ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ มีคุณสมบัติดังนี้

1. เป็นเชื้อที่ไม่ทนความร้อน สามารถทำลายได้ด้วยการพาสเจอร์ไรซ์ (pasteurization)
2. ถูกทำลายโดยกรด ที่ค่า pH ต่ำกว่า 4.5 ไม่เจริญในอาหารที่เป็นกรด (acid food) หรืออาหารปรับกรด (acidified food) เช่น พบว่า ถูกทำลายได้ด้วยการกรดอินทรีย์ เช่น กรดมะนาว (citric acid) ซึ่งมีค่า pH 4.4 ในเวลาเพียง 30 นาที
3. เป็นแบคทีเรียที่ชอบเกลือ (halophilic bacteria) เจริญได้ในอาหารหรือน้ำที่มีเกลือแกง (NaCl) ตั้งแต่ร้อยละ 1-8 เจริญได้ในอาหารหมักเกลือ (salt curing) ที่ปริมาณเกลือในช่วงดังกล่าว แต่ถ้ามากกว่าร้อยละ 10 เซลล์จะถูกทำลาย และไม่เจริญในที่ที่ไม่มีเกลือ
4. สามารถอยู่ได้ที่อุณหภูมิต่ำ ในฤดูหนาวเชื้อสามารถอาศัยในตะกอนใต้พื้นน้ำ และอยู่ได้ในอาหารแช่เย็น เช่น อยู่ในเนื้อปู (1-15 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 วัน กุ้งปอกเปลือก (3-18 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 วัน, หอยนางรมแช่เยือกแข็ง เป็นเวลา 40-130 วัน
5. เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 9.5-45 องศาเซลเซียส มี pH 5-11
6. water activity ต่ำสุด (minimum  $a_w$ ) ที่สามารถเจริญได้ คือ 0.94
7. สามารถเจริญในอาหารที่มีเกลือ NaCl ร้อยละ 0.5-8

ลักษณะที่พบ เป็นแบคทีเรียในสกุล *Vibrio* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง เป็นแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ กระจายอาหาร และลำไส้อักเสบเป็นอันตรายทางอาหาร ประเภทอันตรายทางชีวภาพ (biological hazard)



รูปที่ 2.15 แสดงลักษณะของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus*

ที่มา : <http://medinfo.psu.ac.th/pr/MedBoard/readboard.php?id=168> (6 มกราคม 60)

โรคและอาการของโรคที่เกิดจาก *Vibrio parahaemolyticus* เกิดจากการกินอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไป ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (infective dose) คือ  $10^6$ - $10^9$  cfu/g อาการมักปรากฏหลังจากกินอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อเข้าไป 10 ถึง 12 ชั่วโมง บางรายแสดงอาการภายใน 4 ถึง 6 ชั่วโมง เป็นอาการท้องเสียหรือท้องร่วง มีไข้หรือไม่มีไข้ ปวดท้อง และอาเจียน

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับความเป็นกรดหรือด่าง ภายในระบบทางเดินอาหาร เชื้อนี้ใช้เวลาเพิ่มจำนวนเป็นเท่าตัว (generation time) 10 ถึง 15 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อเข้าสู่ร่างกายเชื้อจะทวีจำนวนขึ้นในลำไส้ มีอาการปวดท้อง อาจปวดเกร็ง ท้องเดิน อุจจาระเป็นน้ำมีกลิ่นเหม็นเหมือนกุ้งเน่า บางรายคล้ายเป็นบิด อุจจาระมีมูกเลือด มีไข้ต่ำ ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน อาการที่เป็นอาจหายได้เองภายใน 2 ถึง 5 วัน อัตราการตายต่ำ โรคนี้นักพบในฤดูร้อน ไม่ค่อยพบในฤดูหนาว

### การป้องกัน

1. หลีกเลี่ยงการรับประทานอาหารทะเลดิบ หรือดิบๆ สุกๆ
2. รับประทานอาหารทะเลที่ทำให้สุกใหม่ๆ
3. แยกอาหารปรุงสุกและดิบออกจากกัน ไม่วางปะปนกัน
4. แยกอุปกรณ์ในการประกอบอาหารหรือทำความสะอาดอุปกรณ์สำหรับอาหารทะเลก่อนนำไปใช้กับอาหารชนิดอื่น
5. บริษัทผู้ผลิตอาหาร ให้ปฏิบัติตามมาตรการด้านความปลอดภัยอาหาร เช่น GMP และ HACCP
6. ป้องกันการเกิดปนเปื้อนข้าม (cross contamination)
7. สุขลักษณะส่วนบุคคล (personal hygiene)
8. ใช้เทคนิคการถนอมอาหาร เพื่อทำลายหรือยับยั้งการเจริญ เช่น การทำลายเชื้อด้วยความร้อน (thermal processing) ตั้งแต่ระดับการพาสเจอร์ไรซ์ (pasteurization) ขึ้นไป การหมักเกลือ (salt curing) โดยใช้เกลือเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 8 การแช่เยือกแข็ง (freezing)

### 2.7 อนุมูลอิสระ (เจนจิรา และ ประสงค์, 2554)

ปัจจุบันมนุษย์มีความใส่ใจในเรื่องสุขภาพและความงามมากขึ้น การศึกษาวิจัยเพื่อหาสารที่มีผลเสียต่อร่างกายและสารที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเสริมสุขภาพที่ดีของร่างกายจึงได้รับความสนใจอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะงานวิจัยเกี่ยวกับอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระ (free radical หรือ oxidant) คือ โมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอก เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีในลักษณะเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆที่อยู่รอบข้าง ในทันทีที่ถูกสร้างขึ้นส่งผลให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ภายในร่างกาย ไม่ว่าจะเป็นการทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) การเปลี่ยนสภาพโปรตีนและไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือการสร้างพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) กับโปรตีนหรือเอนไซม์บางชนิดจนทำให้การทำงานของโปรตีนหรือเอนไซม์เหล่านั้นผิดปกติ (Ames และคณะ, 1993) เป็นสาเหตุสำคัญของโรคหลายชนิด (Nakabeppu และคณะ, 2006; Valko และคณะ, 2007) อนุมูลอิสระเกิดจากผลพลอยได้ในการใช้ออกซิเจนของกระบวนการเมแทบอลิซึม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(metabolism) ของเซลล์รวมทั้งปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่ มลพิษ การติดเชื้อโรค รังสียูวี (UV-ray) โอโซน (ozone) ควันจากท่อไอเสียรถยนต์และควันบุหรี (Denisov, 2006; Scott และคณะ, 2004) อนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถถูกกำจัดหรือลดความรุนแรงด้วยสารที่เรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ที่สามารถจับกับอนุมูลอิสระ แล้วเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่เสถียรมากกว่า ส่งผลให้หยุดวงจรการเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ได้ (Denisov, 2005) ความเข้าใจถึงปัจจัยที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ กลไกหรือปฏิกิริยาเคมีรวมถึงบทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระนับว่าเป็นสิ่งสำคัญอย่างหนึ่งที่จะช่วยให้สามารถป้องกันอันตรายที่อาจจะเกิดขึ้นกับร่างกายได้

### 2.7.1 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ (Sources of free radical)

ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพจะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนเกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา การเกิดอนุมูลอิสระเหล่านี้มีสาเหตุมาจากปัจจัยทั้งภายในและภายนอกร่างกายดังนี้

#### 2.7.1.1 ปัจจัยภายในร่างกาย

ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตจะมีปฏิกิริยามากมายที่เกี่ยวข้องกับทั้งการสร้างและการสลายโมเลกุลของสารที่เรียกว่ากระบวนการเมแทบอลิซึมซึ่งถือเป็นสาเหตุหลักอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ

#### 2.7.1.2 ปัจจัยภายนอกในร่างกาย

1. ยารักษาโรค บางชนิดที่รับประทานเข้าไปในร่างกายสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ยาในกลุ่มต้านจุลชีพและต้านมะเร็ง เช่น บลีโอไมซิน (bleomycin), แอนทราไซคลินส์ (antiracyclines) (Voest และคณะ, 1994) และเมโทเทรีเสต (methotrexate) (Gressier และคณะ, 1994) เนื่องจากมีฤทธิ์เสริมปฏิกิริยาออกซิเดชัน (prooxidation)
2. รังสี การใช้รังสีรักษาโรค เช่น รังสีเอ็กซ์และรังสีแกมมา อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายจากการถ่ายทอดพลังงานให้กับน้ำ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์แล้วก่อให้เกิดปฏิกิริยาขั้นต่อไป (secondary reaction) กับออกซิเจนที่ละลายอยู่ในเซลล์นั้นได้อนุมูลอิสระเกิดขึ้น (Halliwell และคณะ, 1995)
3. ควันบุหรี ในควันบุหรีมีส่วนประกอบของไนตริกออกไซด์ (NO), ไนโตรเจนออกไซด์ (NO<sub>2</sub>) และเพอรอกซีไนเตรต (ONOO-) รวมทั้งสารมลพิษ ได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO<sub>2</sub>) และคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (CCl<sub>4</sub>) ซึ่งจะถูกกำจัดออกจากร่างกายโดยการทำงานของเอนไซม์ ไซโทโครม P-450 ไฮดรอกซีเลส (cytochrome P-450 hydroxylase) ที่มีอยู่มากในเซลล์ตับ และพบได้บ้างในเซลล์ปอดและลำไส้เล็ก ซึ่งเป็นสาเหตุของการสร้างอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ภายในเซลล์ดังกล่าว (Bast และคณะ, 1991)
4. โอโซน ไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระแต่จัดเป็นสารออกซิไดส์แรงสูงซึ่งสามารถเปลี่ยนรูปเป็นอนุมูลไฮดรอกซิลได้จากกักรกระตุ้นของคลื่นแสง (Valacchi และคณะ, 2004) นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.8 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้ (Halliwell, 2009) สารเหล่านี้มีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น ดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ (chelate) กับโลหะเพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ (Sies, 1991) สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารประกอบที่ทนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในเซลล์ (Chattopadhyay และคณะ, 2010) โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติจากสารหลายชนิด เช่น สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) สารประกอบไนโตรเจน (nitrogen compounds) และแคโรทีนอยด์ (carotenoid) (Velioğlu และคณะ, 1998) บทบาทสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระคือ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆของมนุษย์ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมคุณภาพในอาหาร ปัจจุบันองค์การที่เกี่ยวข้องในอุตสาหกรรมอาหารและยาได้พยายามพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติ เช่น สาหร่ายทะเล แบคทีเรีย เชื้อรา และพืชชั้นสูง (Chattopadhyay และคณะ, 2010) อย่างไรก็ตามในภาวะปกติร่างกายของคนเราจะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระอยู่แล้วซึ่งแบ่งออกเป็นสองส่วนคือ ส่วนแรกเกิดจากร่างกายสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล และส่วนที่สองคือ กลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากวิตามินเอ ซี อี หรือเบต้าแคโรทีน ( $\beta$ -carotenoid) รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งเป็นพฤกษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายให้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดียิ่งขึ้น (Shapoval และ Gromovaia, 2003) ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย เช่น เอนไซม์คะตะเลส (catalase), กลูตาไธโอนเพอรอกซิเดส (glutathioneperoxidase) และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) หรือสารประกอบโปรตีนบางอย่าง เช่น อัลบูมิน (albumin), บิลิรูบิน (bilirubin), เซอรูโลพลาสมิน (ceruloplasmin), กลูตาไธโอน (glutathione), ทรานสเฟอริน (transferrin), ยูบิควินอล (ubiquinol) และยูเรต (urate) เป็นต้น สารเหล่านี้มีหน้าที่คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่างๆ ให้อยู่ในระดับพอเหมาะ แต่ถ้าเมื่อใดที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปริมาณมากเกินไปที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมดจะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “oxidative stress” ขึ้นภายใต้สภาวะดังกล่าวอนุมูลอิสระจะทำอันตรายต่ออวัยวะและเนื้อเยื่อของร่างกาย ซึ่งถ้าสะสมปริมาณมากอาจนำไปสู่ความผิดปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.8.1 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งตามแหล่งที่มา 2 ชนิด ได้แก่

### 2.8.1.1 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants)

สารประกอบฟีนอลิกสังเคราะห์ 5 ชนิด ได้แก่ propylgallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylated hydroxyanisole, BHT butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้กันมากในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันอันเป็นสาเหตุให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติที่เปลี่ยนไป สารสังเคราะห์เหล่านี้มีประสิทธิภาพและความคงตัวสูงกว่าสารสกัดจากธรรมชาติแต่มีข้อจำกัดของการใช้เนื่องจากปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค (Yang และคณะ, 2000; Pokorny และคณะ, 2001)

### 2.8.1.2 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants)

สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าอย่างมากในปัจจุบันเนื่องจากเชื่อมั่นว่ามีความปลอดภัยในการบริโภคมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้พบได้ทั้งในจุลชีพ สัตว์ และพืชซึ่งมีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีนและสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิก โดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) เช่น แซนโทน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่เกาะบนวงเบนซีน (aromatic hydroxyl) ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป หมู่ฟังก์ชัน (functional group) เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นหรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยการให้อนุมูล  $H^{\cdot}$  แก่อนุมูลอิสระเหล่านั้น นอกจากนี้สารประกอบโพลีฟีนอลที่มีโครงสร้างของ ortho-dihydroxyl phenol อยู่ในโมเลกุลยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูล  $OH^{\cdot}$  ในปฏิกิริยาที่มีอนุมูลโลหะทรานซิชัน คือ  $Fe^{2+}$  และ  $Cu^{2+}$  เป็นตัวเหนี่ยวนำได้โดยการเข้าจับกับโลหะดังกล่าวเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex) (Sanchez-Moreno และคณะ, 2000) สารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอลซึ่งพบในพืชสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ทั้งในห้องปฏิบัติการ (in vitro)

## 2.8.2 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ

จากรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระพบว่ามีหลายกลไกดังนี้

### 2.8.2.1 การดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging)

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้โดยการทำให้อิเล็กตรอนของอนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้น ซึ่งกลไกของปฏิกิริยาเกิดโดยการให้ไฮโดรเจน หรือ อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ (Valacchi และคณะ, 2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.8.2.2 การยับยั้งการทำงานของซิงเกิลท็อกซิเจน

(Singlet oxygen quenching,  $1O_2^*$ ) สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) สามารถยับยั้งการทำงานของซิงเกิลท็อกซิเจน โดยการเปลี่ยน ( $1O_2^*$ ) ให้อยู่ในรูปทริปเปท (triplet oxygen ( $3O_2$ )) และ ปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อน โดยที่แคโรทีนอยด์ (Car) จำนวน 1 โมเลกุล สามารถทำปฏิกิริยากับซิงเกิลท็อกซิเจนได้ถึง 1,000 โมเลกุล (Sies และคณะ, 1992)

### 2.8.2.3 การจับกับโลหะและไปเร่งการเกิดปฏิกิริยากับสาร

ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (metal chelation) (Sanchez-Moreno และคณะ, 2000) โลหะที่มีผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระคือ  $Fe^{2+}$   $Cu^{2+}$  ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ฟอสฟอริก แอซิด (phosphoric acid) และซิตริกแอซิด (citric acid) เป็นต้น

### 2.8.2.4 หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chainbreaking)

วิตามินอี ( $\infty$ -tocopherol; Toc-OH) สามารถป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ให้ถูกทำลาย จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ (lipid autooxidation) โดยการทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน (electron-acceptor antioxidants) จากอนุมูล peroxy ( $ROO^*$ ) (Burton และ Traber, 1990) กลไกการเสริมฤทธิ์กัน (synergism) สารชนิดนี้จะช่วยสนับสนุนให้สารต้านอนุมูลอิสระทำงานได้ดีขึ้น เช่น การทำงานร่วมกันระหว่างวิตามินอี ( $\infty$ -tocopherol) กับวิตามินซี (ascorbic acid) โดยที่วิตามินซีไม่สามารถทำงานในสภาวะไม่มีขั้ว (hydrophobic condition) ได้เหมือนกับวิตามินอี แต่จะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลแอลฟา-โทโคฟีรอลเปอร์ออกซิล ( $\infty$ -tocopherolperoxy) ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างแอลฟา-โทโคฟีรอลกับอนุมูลเปอร์ออกซิล ( $ROO^*$ ) เพื่อเปลี่ยนรูปกลับไปเป็น แอลฟา-โทโคฟีรอลที่สามารถทำงานได้ (Frankel, 1998) ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibition) สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก (phenolic acid) และแกลเลต (gallates) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลโปออกซิจีเนส (lipoxygenase) โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ส่งผลให้เอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้ (Puerta, 1999) สารต้านอนุมูลอิสระกับการป้องกันโรค การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารต้านอนุมูลอิสระได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากอนุมูลอิสระส่งผลเสียต่อร่างกายและเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหลายชนิดในมนุษย์ เช่น โรคมะเร็ง ความดันโลหิตสูง เบาหวาน รูมาตอยด์ (Cornish และ Garbary, 2010) การศึกษาข้อมูลทางเภสัชวิทยาของสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่ามีสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่มีส่วนส่งเสริมสุขภาพและป้องกันการเกิดโรคในมนุษย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.8.3 การสกัดและการตรวจสอบฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่เป็นสารประกอบฟีนอลิก สารกลุ่มนี้มีหลากหลายชนิด ตัวอย่างเช่น tocopherol, tocotrienol, oryzanol, oryzanols (Lai และคณะ, 2007), caffeic acid, syring acid, rutin, (-)-epicatechin, (+)-catechin, gallic acid, vanilic acid, p-coumaric acid, ferulic acid และ quercetin (Que และคณะ, 2007) รวมทั้งสารจำพวกฟลาโวนอยด์ (Vichitphan และคณะ, 2007; Ramamoorthy และ Bono, 2007) โดยทั่วไปการสกัดสารประกอบฟีนอลิกมักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งมีความแตกต่างกันตามแต่ลักษณะและองค์ประกอบของสาร ตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้สำหรับสกัดสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ น้ำเมทานอล เอทานอล (Alluri และคณะ, 2009) เอธิลอะซิเตต (Ramamoorthy และ Bono, 2000; Lai และคณะ, 2009) และตัวทำละลายที่มีขี้ด้า เช่น เฮกเซน ( $C_6H_{14}$ ), อะซีโตน ( $C_3H_6O$ ), คลอโรฟอร์ม ( $CHCl_3$ ), ปีโตรเลียมอีเทอร์ หรือ คาร์บอนเตตระคลอไรด์ ( $CCl_4$ )

ปัจจุบันพบว่าพืชผักและผลไม้ที่มีสี เช่น สีแดง ดำ หรือม่วงจะมีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง (Zang และคณะ, 2006) วิธีการที่นิยมนำมาใช้ในการตรวจสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระมีหลายวิธี แต่ละวิธีมีความจำเพาะต่อสารแตกต่างกัน โดยปกติแล้วการตรวจสอบมักจะสรุปผลจากหลายวิธีร่วมกันเพื่อให้ผลการทดสอบมีความถูกต้องยิ่งขึ้น วิธีที่ใช้ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่นิยมได้แก่ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Que และคณะ, 2006), Ferric reducing antioxidant power (FRAP) (Alia และคณะ, 2009; Ramamoorthy และ Bono, 2007), Trolox equivalents antioxidant capacity (TEAC), lipid peroxidation reducing power และ metal chelating ability (Lai และคณะ, 2007) ส่วนเครื่องมือที่นิยมใช้ในการตรวจหาชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับความนิยม คือ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Vichitphan และคณะ, 2007; Lai และคณะ, 2007) อนุมูลอิสระเกิดจากปัจจัยทั้งภายในและภายนอกร่างกายเป็นสารที่ไม่เสถียรและมีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยา จึงสามารถจับกับโมเลกุลภายในร่างกายและส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อองค์ประกอบของเซลล์แล้วนำไปสู่การเสื่อมประสิทธิภาพ และเป็นสาเหตุของโรคหลายชนิดโดยเฉพาะโรคมะเร็ง อนุมูลอิสระถูกทำลายด้วยสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งทำหน้าที่ให้ความเสถียรกับโมเลกุลของอนุมูลอิสระ ปกติร่างกายมนุษย์จะมีสารต้านอนุมูลอิสระคอยดักจับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น หากมีปริมาณมากเกินไปร่างกายจำเป็นต้องได้รับจากภายนอก สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งชนิดสังเคราะห์และมาจากธรรมชาติโดยเฉพาะผักผลไม้ ผลการศึกษาชี้ชัดว่าสารต้านอนุมูลอิสระมีฤทธิ์ในการยับยั้งอันตรายของอนุมูลอิสระ

ในปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับอนุมูลอิสระอย่างกว้างขวางทั้งในส่วนของ การค้นหาชนิดและศึกษาฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระรวมทั้งความเกี่ยวข้องของโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระและกลไกการป้องกันจากสารต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.9 การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

### 2.9.1 วิธี DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical (Hou และคณะ, 2001)

อนุมูล DPPH<sup>+</sup> เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้ว โดยที่ไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณีอนุมูล ABTS<sup>++</sup> การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม การวัดทำโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) วัดการลดลงของสีเมื่อเติมสารต้านออกซิเดชันลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง (scavenging activity) โดยสารละลายของ DPPH<sup>+</sup> จะมีสีม่วงในเอทานอล และเมื่อได้รับ H จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง ตามสมการดังนี้ (Blois, 1958)

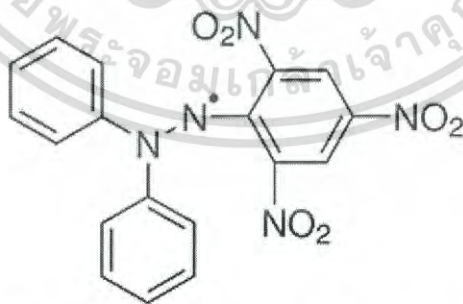


สีม่วง                      ตัวอย่างทดสอบ                      สีเหลือง

ค่าที่วัดได้จะแสดงความสามารถในการต้านออกซิเดชันออกมาในค่า % inhibition ตามสมการดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{517} \text{ control} - A_{517} \text{ test sample}) / A_{517} \text{ control}] \times 100$$

ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่ายนิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ ข้อเสียของวิธีนี้ คือ อนุมูล DPPH<sup>+</sup> มีความคงตัวไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้



รูปที่ 2.16 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ DPPH radical

ที่มา: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/d9132?lang=en&region=US>

(8 มกราคม 60)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.9.2 วิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity (Ohkawa และคณะ, 1979)

Hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>) เป็นอนุมูลอิสระที่ว่องไว สามารถจับโมเลกุลที่สำคัญภายในร่างกาย โดยการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่อย่างต่อเนื่อง (Spencer และคณะ, 1994) สิ่งมีชีวิตสามารถสร้าง OH<sup>•</sup> radical โดย 2 กลไก ได้แก่

### 2.9.2.1 ปฏิกิริยาของไอออนโลหะทรานซิชันกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

แม้ว่าเกลือของโลหะทรานซิชันทั่วไปทำปฏิกิริยากับ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ได้ OH<sup>•</sup> แต่ในร่างกายนั้น อาจเป็นไปได้ว่าเกิดจากเหล็ก Fe<sup>2+</sup> ทำปฏิกิริยากับ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ได้ OH<sup>•</sup> โดยเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Fenton reaction ดังสมการ



### 2.9.2.2 การแตกตัวของน้ำเนื่องจากการถูกแสงหรือรังสี



ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้ง OH<sup>•</sup> radical ของสารตัวอย่างต้องทำการสังเคราะห์ Hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>) จากน้ำตาล deoxyribose โดยปฏิกิริยา Fenton reaction model system เมื่อเติมสาร Thiobarbituric acid (TBA) และ Trichloroacetic acid จะเกิดเป็นสีชมพูเมื่อเติมสารที่ต้องการทดสอบซึ่งมีความสามารถในการยับยั้ง OH<sup>•</sup> radical ลงไปจะทำให้สีชมพูของสารละลายจางลง โดยสามารถตรวจสอบได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm (Mathew and Abraham, 2006) จากนั้นนำไปคำนวณเป็น % inhibition ได้ตามสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{532} \text{ control} - A_{532} \text{ test sample}) / A_{532} \text{ control}] \times 100$$

([http://archive.lib.cmu.ac.th/full/T/2551/biol0451tp\\_ch2.pdf](http://archive.lib.cmu.ac.th/full/T/2551/biol0451tp_ch2.pdf), สืบค้นเมื่อ 8 ม.ค. 2560)

## 2.10 การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

### 2.10.1 วิธีการ Agar diffusion Test

วิธีที่ใช้แพร่หลายมากที่สุด คือ Disc diffusion method (Kirby-Bauer) เนื่องจากสะดวก ประหยัด และใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่นๆ วิธีนี้เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพสามารถบอกผลได้ว่าเชื้อมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่ โดยไม่อาจทราบค่า MIC และไม่เหมาะในการทดสอบเชื้อที่เจริญช้า รวมทั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศในการดำรงชีพ หลักการทั่วไปคือการทำให้สารสกัดสมุนไพรที่มีในเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผ่นกระดาษกรอง (paper disc) ที่เตรียมไว้ก่อน ซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้กระจายเชื้อ (spread) ในจำนวนที่เหมาะสมไว้ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงให้เชื้อเจริญเติบโต อ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสไม่มีโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์รอบๆ แผ่น disc ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแปรตามขนาดของ inhibition zone วิธีการนี้โดยทั่วไปมักทำการทดสอบสมุนไพรรักษาเพียงความเข้มข้นเดียว และใช้เป็น การตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรรักษาเบื้องต้น นอกจากขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อที่ทดสอบแล้ว ยังอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ขนาดโมเลกุลของสารสกัดสมุนไพรรักษา ความสามารถในการละลายหรือซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อของสมุนไพรรักษา อัตราการเจริญของเชื้อ ภาวะความเป็นกรด-ด่าง และส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ ตลอดจนระยะเวลาในการเพาะเชื้อ

สำหรับแหล่งรองรับสมุนไพรรักษา (drug reservoir) ที่ใช้มักใช้เป็นกระดาษซับวงกลม (filter paper disc) หรืออาจเรียกว่า dish sensitivity test หรืออาจเป็นหลุมที่เจาะลงในเนื้อ agar

วิธีการทำ Agar Diffusion Test (disc diffusion test และ hole-plate diffusion) เตรียมเชื้อเพื่อใช้ในการทดสอบโดยเพิ่มจำนวนเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว วัดความขุ่นของเชื้อเพื่อให้ได้จำนวนเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับการทดสอบแล้ว spread เชื้อบน Mueller-Hinton agar ให้ทั่ว จากนั้นจุ่มกระดาษกรองปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ในสารละลายสกัดสมุนไพรรักษาและวางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ควรทำกลุ่มควบคุมคือกระดาษกรองปลอดเชื้อที่จุ่มในตัวทำละลายสมุนไพรรักษาด้วย หรืออาจใช้วิธีการเจาะหลุม hole - plate diffusion (เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) แล้วหยดสารละลายสมุนไพรรักษาลงไปประมาณ 40 ไมโครลิตร/หลุม บ่มเพาะเชื้อนาน 24 ชั่วโมง แล้ววัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone โดยเทียบกับกลุ่มควบคุมบวกที่ใช้ disc ยาปฏิชีวนะที่ทราบปริมาณยาที่แน่นอน

การแปรผลของวิธีนี้จะสามารถบอกได้เพียงว่าสมุนไพรรักษาที่ความเข้มข้นนั้นๆ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้มากหรือน้อยตามขนาดของบริเวณใสเท่านั้นและอาจใช้การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่เกิดจากยาปฏิชีวนะมาตรฐาน

Agar dilution test เป็นการทดสอบความไวของเชื้อแบบปริมาณวิเคราะห์ โดยมีหลักการทดสอบคล้ายคลึงกับ Broth dilution method ต่างกันเพียงชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่านั้น กล่าวคือทำการทดสอบโดยการเจือจางสารทดสอบในอาหารวุ้น และถ่ายเชื้อลงบนผิวของอาหารวุ้น ข้อดีของวิธีนี้คือ สามารถทำการทดสอบเชื้อหลายชนิดบนอาหารเลี้ยงเชื้อจานเดียวกันได้ วิธีนี้สามารถหาค่า MIC ได้แต่ไม่สามารถหาค่า MLC ได้ ค่าความเข้มข้นของสารที่น้อยที่สุดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อเป็นค่า MIC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.10.2 ขั้นตอนการทำ agar dilution test

นำ stock solution มาเจือจางด้วยน้ำหรือตัวเจือจางที่เหมาะสมจนได้ความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบ แล้วจึงใส่ใน agar medium ซึ่งหลอมไว้ (45-50°C) การเตรียมขนาดเชื้อด้วยวิธีการเดียวกับที่ทำใน broth dilution test แต่เจือจางขนาดเชื้อลงให้ได้ขนาดเชื้อประมาณ  $1 \times 10^4$  ตัวต่อจุด ซึ่งเมื่อแต่ละเชื้อลงบน agar ทดสอบแล้วต้องทิ้งให้ซึมหมดก่อนคว่ำ plate นำไปบ่มที่ 35-37 °C นาน 16-20 ชั่วโมง (เชื่อที่เจริญช้าอาจให้นานมากกว่า 48 ชั่วโมง) แล้วอ่านค่า MIC ที่ความเข้มข้นที่จะต้องไม่มีเชื้อขึ้นเลย

## 2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Aleksandra และคณะ (2007) ศึกษากิจกรรมยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของชาหมักสระแหน่ โดยใช้ระยะเวลาในการหมัก 7-10 วัน พบว่าชาหมักสระแหน่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์สูงกว่าในชาหมักคอมบูชาแบบดั้งเดิมประมาณร้อยละ 5-10 จากนั้นทำการทดลองนำชาหมักสระแหน่และชาหมักคอมบูชาไปให้ความร้อน พบว่าชาหมักคอมบูชามีค่าลดลงในบางเชื้อ ส่วนชาหมักสระแหน่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์เพิ่มสูงขึ้น หลังจากนั้นทำการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยเทียบระหว่างชาหมักสระแหน่กับชาสระแหน่ พบว่าชาหมักสระแหน่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชาสระแหน่ประมาณร้อยละ 10 ในทุกปริมาณที่นำมาทดสอบ

Battikh และคณะ (2012) ศึกษาการหมักชาดำร่วมกับสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ *Thymus vulgaris* L., *Lippia citriodora*, *Rosmarinus officinalis*, *Foeniculum vulgare* และ *Mentha piperita* เมื่อทดสอบด้วยวิธีการ Agar diffusion พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีมากขึ้น โดยเฉพาะการหมักร่วมกับพืช *L. citriodora* และ *F. vulgare* ซึ่งทดสอบกับเชื้อสายพันธุ์ *Candida* sp.

Burakorn และคณะ (2012) ทำการศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรไทยที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, *Klebsiella pneumoniae* ATCC27736, *Staphylococcus aureus* ATCC6538 ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดพริกแม้วด้วยเมทานอล มีการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด สารสกัดสระแหน่ด้วยน้ำและสารสกัดชะพลูด้วยเมทานอล แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุด

Battikh และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับคอมบูชาแบบดั้งเดิมที่มีการหมักจากชาดำและมีการหมักจากชาเขียวเพื่อนำมาเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้เวลาในการหมัก 21 วัน พบว่าการหมักคอมบูชาในชาเขียวมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์สูงสุด โดยพบว่าการวัดบริเวณวงใสรอบโคโลนีของ *Staphylococcus epidermidis* ได้ 22 มิลลิเมตร *Listeria* ไมวากรณ์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*monocytogenes* ได้ 22 มิลลิเมตร และ *Micrococcus luteus* ได้ 21.5 มิลลิเมตร

Pure และคณะ (2016) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการหมักคอมบูชาด้วยของเหลือทิ้ง คือ เปลือกกล้วย และจากสมุนไพรร คือ ชาใบตำแย โดยพบว่าชาใบตำแยมีปริมาณของสารฟีนอลมากกว่าในเปลือกกล้วยจึงทำให้ชาคอมบูชา ที่หมักด้วยชาใบตำแยมีฤทธิ์ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์มากกว่าที่หมักคอมบูชาด้วยเปลือกกล้วย

Sun และคณะ (2015) ทำการศึกษาเกี่ยวกับการเพิ่มคุณสมบัติของชาหมักคอมบูชาโดยการเติมหญ้าหวานลงไปในชาดำหวานทำการหมักร่วมกันในอัตราส่วนต่างๆ หัวเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ร้อยละ 20 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ประกอบไปด้วยเชื้อยีสต์ (*Dekkera bruxellensis*) และแบคทีเรียอะซิติก (*Gluconacetobacter rhaeticus* และ *Gluconacetobacter roseus*) ทำการหมักที่อุณหภูมิ  $29 \pm 1$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน พบว่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด มีค่าสูงกว่าคอมบูชาแบบดั้งเดิม ทำให้ทราบว่า การเติมหญ้าหวานลงไปมีส่วนช่วยในการส่งเสริมปริมาณของฟีนอลิกและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในชาหมักคอมบูชาให้เพิ่มสูงขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

##### 3.1.1 วัสดุดิบ

- 3.1.1.1 ซาดำ (ตราสามม้า เบอร์ 1)
- 3.1.1.2 น้ำตาลซูโครส (น้ำตาลทรายแดง ตรามิตรผล)
- 3.1.1.3 สมุนไพรไทย (เก๋ากี้, ขิงแก่สด, สะระแหน่สด)

##### 3.1.2. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 3.1.2.1 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
- 3.1.2.2 Absolute ethanol
- 3.1.2.3 Sodium hydroxide
- 3.1.2.4 Phenolphthalein
- 3.1.2.5 3% Sodium chloride
- 3.1.2.6 Nutrient Broth
- 3.1.2.7 Potato Dextrose Broth
- 3.1.2.8 Mueller Hinton Broth
- 3.1.2.9 Agar
- 3.1.2.10 15% Glycerol
- 3.1.2.11 70% Ethanol
- 3.1.2.12 95% Ethanol
- 3.1.2.13 Peptone
- 3.1.2.14 Dextrose

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.1.3 เชื้อจุลินทรีย์

- 3.1.3.1 *Escherichia coli* ATCC 85922
- 3.1.3.2 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- 3.1.3.3 *Salmonella typhimurium* TISTR 1469
- 3.1.3.4 *Vibrio parahaemolyticus* TISTR 1596
- 3.1.3.5 *Bacillus cereus* ATCC 6633
- 3.1.3.6 *Listeria monocytogenes*
- 3.1.3.7 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- 3.1.3.8 *Candida albicans* ATCC 90028

### 3.1.4 ยาต้านเชื้อจุลินทรีย์

- 3.1.4.1 ยาต้านเชื้อแบคทีเรีย
  - Vancomycin (CJ CheiUedang) 500 ไมโครกรัม
  - Gentamicin (Sisco Research) 1 กรัม
- 3.1.4.2 ยาต้านเชื้อยีสต์
  - Ketoconazole (Biopharm) 200 ไมโครกรัม

### 3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.1.5.1 โหลแก้ว ขนาด 5 ลิตร
- 3.1.5.2 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 3.1.5.3 หลอดทดลอง
- 3.1.5.4 จานเพาะเชื้อ
- 3.1.5.5 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 3.1.5.6 Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร
- 3.1.5.7 ลวดเขี่ยเชื้อ
- 3.1.5.8 ปิเปต
- 3.1.5.9 ลูกยาง

### 3.1.5.10 ผ้าขาวบาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูผู้ใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.1.5.11 บิวเรตต์
- 3.1.5.12 McFarland standard No.0.5
- 3.1.5.13 เครื่องมือวัดขนาด (Vernier calipers)
- 3.1.5.14 เครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Refractometer) ยี่ห้อ ATAGO
- 3.1.5.15 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง รุ่น TE214S ยี่ห้อ Sartorius
- 3.1.5.16 ตู้เขี่ยเชื้อ รุ่น ABS 1200 ยี่ห้อ Astec Microflow
- 3.1.5.17 ตู้ป่นเชื้อ รุ่น D06062 ยี่ห้อ BINDER CONTROL 62
- 3.1.5.18 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น CS 1030 ยี่ห้อ First Clean corporation
- 3.1.5.19 หม้อนึ่งอัดไอ (autoclave) รุ่น ES-315 ยี่ห้อ TOMY
- 3.1.5.20 เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Microplate reader) รุ่น FLUO Star Omega ยี่ห้อ BMG Labtech GmbH
- 3.1.5.21 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น Z383K ยี่ห้อ HERMLE
- 3.1.5.22 Microwave รุ่น R-242 ยี่ห้อ SHARP

## 3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

### 3.2.1 การหมักคอมบูชาเพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างชาดำกับสมุนไพรร

#### 3.2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อชาหมักคอมบูชา

นำน้ำสะอาดปริมาตร 1 ลิตร ต้มให้เดือด จากนั้นนำชาดำที่ห่อด้วยผ้าขาวบาง 4 กรัม (ร้อยละ 0.4 น้ำหนักต่อปริมาตร) ใส่ลงในน้ำที่ต้มเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำชาออกจากน้ำชาและเติมน้ำตาลซูโครส 70 กรัม (ร้อยละ 7 น้ำหนักต่อปริมาตร) คนให้น้ำตาลซูโครสละลาย ทั่วให้เย็น เทน้ำชาใส่ในขวดโหลที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยเติมชาดำหวานปริมาตร 1 ลิตรลงไป จากนั้นเติมแผ่นเซลลูโลสลงในชาดำหวาน 30 กรัม (ร้อยละ 3 ของน้ำหนักเปียก) และเติมน้ำหมักเดิมลงไป 100 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10 ปริมาตรต่อปริมาตร) ปิดปากโหลด้วยผ้าขาวบาง รัดด้วยหนังยางให้แน่น บ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10-14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2.1.2 การหมักคอมบูชาร่วมกับสมุนไพร

นำชาดำและสมุนไพร ได้แก่ สะระแหน่ ชิง และเก๋ากี้มาใช้ในการหมักร่วมกัน โดยใช้ความเข้มข้นของชาดำและสมุนไพรแต่ละชนิดร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) นำน้ำสะอาดปริมาตร 1 ลิตร ต้มให้เดือด นำชาดำห่อด้วยผ้าขาวบาง 10 กรัม และสมุนไพร 10 กรัม ใส่ในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที นำชาและสมุนไพรออกจากน้ำชาผสมสมุนไพร จากนั้นเติมน้ำตาลซูโครส 150 กรัม (ร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร) คนให้น้ำตาลละลายทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เทน้ำชาใส่ขวดโหลที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยเติมแผ่นเซลล์ูโลสเดิมลงในน้ำชาผสมสมุนไพร 30 กรัม (ร้อยละ 3 ของน้ำหนักเปียก) และเติมน้ำหมักเดิม 100 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10 ปริมาตรต่อปริมาตร) ปิดปากโหลด้วยผ้าขาวบาง รัดหนังยางให้แน่น โดยแต่ละสมุนไพรทำชนิดละ 5 อัตราส่วน (ชาดำ : สมุนไพร; 1:3 1:2 1:1 2:1 และ 3:1) บ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2$  องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นทำการกรองแผ่นเซลล์ูโลสออกจากชาหมัก นำชาหมักที่ได้ไปทดสอบทางประสาทสัมผัส เพื่อหาอัตราส่วนที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุดของสมุนไพรแต่ละชนิด เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาต่อไป

### 3.2.1.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

นำชาหมักคอมบูชาที่หมักร่วมกับสมุนไพรในแต่ละอัตราส่วน (ชาดำ : สมุนไพร; 1:3 1:2 1:1 2:1 และ 3:1) มาใช้ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อดูการยอมรับของผู้บริโภค ผ่านการทดสอบชิมแบบ 9-point Hedonic scale โดยมีผู้ทดสอบชิม 25 คน คัดเลือกการใช้สมุนไพรหมักร่วมกับชาดำในอัตราส่วนต่างๆ ที่ให้คะแนนความชอบสูงสุด

## 3.2.2 ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางชีวภาพของชาหมักคอมบูชาที่หมักร่วมกับสมุนไพร

หมักคอมบูชาร่วมกับสมุนไพรแต่ละชนิดในอัตราส่วนที่ผู้บริโภคชอบมากที่สุด ดังวิธีข้างต้น เป็นระยะเวลา 20 วัน เก็บตัวอย่างชาหมักปริมาตร 25 มิลลิลิตร ในวันที่ 0, 5, 10, 15 และ 20 นำชาหมักปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้วิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้

### 3.2.2.1 การวิเคราะห์ทางเคมี

1. pH ของชาหมัก โดยใช้เครื่อง pH meter
2. ปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก)

โดยการนำน้ำหมักที่ได้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ไปเจือจางกับน้ำปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาตร 45 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด นำมาไทเทรตกับเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ทำให้สารละลายตัวอย่างเปลี่ยนเป็นสีชมพู (จุดยุติ) ตามสูตรดังนี้

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก)} = \frac{\text{ปริมาณของสารละลาย NaOH (ml)} \times \text{M.W.} \times 100}{1000 \times \text{ปริมาตรของสารตัวอย่าง}}$$

โดย มวลโมเลกุลของกรดอะซิติก (M.W.) มีค่าเท่ากับ 60

3. ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Total soluble solid) โดยใช้ Hand refractometer

### 3.2.2.2 การทดสอบทางชีวภาพ

#### 1. การวิเคราะห์ค่าการดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging activity)

ด้วยวิธี di(phenyl) - (2,4,6-trinitrophenyl) iminozanium (DPPH)

ค่าความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระวิเคราะห์ตามวิธีของ Blois (1958) ซึ่งมีการดัดแปลงวิธีการเล็กน้อย โดยนำตัวอย่างชาหมักชนิดต่างๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร มาผสมกับ 0.2 mM DPPH ที่ละลายในเอทานอล 100 ไมโครลิตร บ่มสารผสมที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที และวัดการลดลงของอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการคำนวณฤทธิ์ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันตามสมการ ดังนี้

$$\text{กิจกรรมในการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH (ร้อยละ)} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{extract}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

หรือฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ร้อยละ)

โดยค่ากิจกรรมในการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH หาได้จากการนำแต่ละตัวอย่างมาวิเคราะห์ทั้งหมด 18 ซ้ำ

#### 2. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

##### 2.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์โดยการถ่ายเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *V. parahaemolyticus*, *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* ลงในอาหาร Mueller Hinton Broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ *Candida albicans* ลงในอาหาร Sabouraud's Dextrose Broth สำหรับยีสต์ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในอาหาร MHB streak ลงบนอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เชื้อยีสต์ที่เจริญในอาหาร SDB streak ลงบนอาหาร Sabouraud's Dextrose Agar (SDA) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหาร MHA และ SDA ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารทสวงนเวสสำหรับกรเซงนเพอกรศกษชเอนน เมอนุญตเอนนไปเซประเชชนตงนกรคช  
ไม่วกรณเคช ทุงลัน ออทงห้ห้มมเให้ดตเปลงเนือหหและตองอองงอถึงเจ้ชงนเอกสทรทุกรงช้ทุมกรน้ชงนไปช้

อยู่ในงานเพาะเชื้อ โดยนำปลายลูปแตะเชื้อมาเพียงเล็กน้อยใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำมาเทียบความขุ่นกับ McFarland standard No.0.5 ซึ่งจะได้เซลล์แขวนลอยของเชื้อที่มีความหนาแน่นประมาณ  $1.5 \times 10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

2.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในน้ำหมักคอมบูชาโดยวิธี Agar well diffusion

เตรียมอาหาร MHA ในงานเพาะเชื้อ จากนั้นใช้ไม้สำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วชุบเซลล์แขวนลอยจุลินทรีย์ที่มีความหนาแน่นประมาณ  $1.5 \times 10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ทา (Swab) ให้ทั่วอาหาร MHA และ SDA จากนั้นใช้ cork borer ที่ผ่านการฆ่าเชื้อเจาะลงในจานอาหาร จำนวน 6 หลุม หยดตัวอย่างจำนวน 6 ตัวอย่าง คือ ชาที่ไม่ผ่านการหมัก คอมบูชา ชาดำผสมขิง ชาดำผสมสะระแหน่ ชาดำผสมเก๋ากี้ และยาปฏิชีวนะ โดยยาปฏิชีวนะ vancomycin (0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) จะหยดลงบนงานเพาะเชื้อของแกรมบวก ได้แก่ *S. aureus*, *L. monocytogenes* และ *B. cereus* ยาปฏิชีวนะ Gentamicin (0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) หยดลงบนงานเพาะเชื้อของแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *V. parahaemolyticus*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ยาปฏิชีวนะ Ketoconazole (0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) หยดลงบนงานเพาะเชื้อของยีสต์ ได้แก่ *Candida albicans* และชาที่มีการหมักร่วมกับสมุนไพรนำมาใช้ทดสอบโดยนำไปกรองผ่านกระดาษกรองขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร ก่อนหยดใส่ในหลุมปริมาตร 20 ไมโครลิตร นำไปบ่มเพาะเชื้อแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง และบ่มเพาะเชื้อยีสต์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงทำการทดสอบเชื้อละ 7 ข้ำ จากนั้นทำการตรวจผลโดยดูจากเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เชื้อไม่เจริญ (clear zone) โดยใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier Caliper)

### 3.2.3 การปรับปรุงรสชาติชาหมักร่วมกับสมุนไพรแต่ละชนิดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง

ทำการหมักชาดำร่วมกับสมุนไพรแต่ละชนิดตามระยะเวลาที่เหมาะสม ที่มีฤทธิ์ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคได้สูง นำมาปรับปรุงรสชาติให้เป็นที่ยอมรับต่อผู้บริโภค จากนั้นนำมาวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคอีกครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนที่ใช้ในการปรับปรุงรสชาติทั้ง 5 สูตร

| อัตราส่วน \ สูตร | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------------------|---|---|---|---|---|
| ชาหมัก           | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 |
| น้ำสมุนไพร       | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 |
| ชาดำหวาน         | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 |

\*หมายเหตุ

- ชาหมัก คือ คอมบูชาแบบดั้งเดิม ชาดำผสมขิง ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ ในระยะเวลาการหมัก 20 วัน

### 3.2.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยมีจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละตัวอย่างที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ ) ด้วยวิธีของ Duncan โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

#### 4.1 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการหมักร่วมกันของชาดำกับสมุนไพรมะนาว

จากการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการหมักร่วมกันระหว่างชาดำและสมุนไพรมะนาวแต่ละชนิด ได้แก่ ชิง สะระแหน่ และเก๋ากี้ เพื่อหาอัตราส่วนที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุดผ่านการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยใช้การทดสอบแบบ 9-point Hedonic Scale พบว่าอัตราส่วนที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุดของชาดำผสมชิง ชาดำผสมสะระแหน่ ชาดำผสมเก๋ากี้ คือ อัตราส่วน 1:1 แสดงดังตารางที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 โดยมีคอมพิวเตอร์ (ชาดำอย่างเดียว) เป็นตัวควบคุม

ตารางที่ 4.1 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำผสมชิง หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 10 วัน

| ตัวอย่างชาหมัก | ความใส                   | ความสี                   | ความเปรี้ยว              | ความหวาน                 | ความกลมกล่อม              | ความชอบโดยรวม             |
|----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| ชาดำ:ชิง (1:0) | 5.96 <sup>a</sup> ± 0.33 | 6.48 <sup>a</sup> ± 0.24 | 5.96 <sup>a</sup> ± 0.34 | 5.84 <sup>a</sup> ± 0.42 | 6.36 <sup>a</sup> ± 0.39  | 6.56 <sup>a</sup> ± 0.35  |
| ชาดำ:ชิง (3:1) | 5.80 <sup>a</sup> ± 0.31 | 6.36 <sup>a</sup> ± 0.27 | 4.64 <sup>a</sup> ± 0.47 | 5.04 <sup>a</sup> ± 0.44 | 4.60 <sup>b</sup> ± 0.46  | 5.04 <sup>b</sup> ± 0.40  |
| ชาดำ:ชิง (2:1) | 6.40 <sup>a</sup> ± 0.24 | 6.32 <sup>a</sup> ± 0.30 | 5.16 <sup>a</sup> ± 0.40 | 5.32 <sup>a</sup> ± 0.43 | 5.32 <sup>ab</sup> ± 0.46 | 5.64 <sup>ab</sup> ± 0.45 |
| ชาดำ:ชิง (1:1) | 6.40 <sup>a</sup> ± 0.31 | 6.36 <sup>a</sup> ± 0.33 | 5.76 <sup>a</sup> ± 0.35 | 5.76 <sup>a</sup> ± 0.32 | 5.72 <sup>ab</sup> ± 0.40 | 6.00 <sup>ab</sup> ± 0.38 |
| ชาดำ:ชิง (1:2) | 6.60 <sup>a</sup> ± 0.23 | 6.28 <sup>a</sup> ± 0.39 | 5.56 <sup>a</sup> ± 0.48 | 5.64 <sup>a</sup> ± 0.48 | 5.72 <sup>ab</sup> ± 0.40 | 6.16 <sup>ab</sup> ± 0.46 |
| ชาดำ:ชิง (1:3) | 6.52 <sup>a</sup> ± 0.28 | 6.88 <sup>a</sup> ± 0.23 | 5.32 <sup>a</sup> ± 0.48 | 5.20 <sup>a</sup> ± 0.44 | 5.52 <sup>ab</sup> ± 0.47 | 5.96 <sup>ab</sup> ± 0.46 |

\*หมายเหตุ

- คะแนนความพึงพอใจในการทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 25 ซ้ำ
- <sup>ab</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำผสมสระแทน หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 10 วัน

| ตัวอย่างชาหมัก    | ความใส                    | สี                        | ความเปรี้ยว               | ความหวาน                 | ความกลมกล่อม              | ความชอบโดยรวม             |
|-------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| ชาดำ:สระแทน (1:0) | 6.12 <sup>ab</sup> ± 0.27 | 6.52 <sup>ab</sup> ± 0.28 | 6.00 <sup>ab</sup> ± 0.34 | 6.28 <sup>a</sup> ± 0.37 | 6.64 <sup>a</sup> ± 0.37  | 6.92 <sup>a</sup> ± 0.28  |
| ชาดำ:สระแทน (3:1) | 5.56 <sup>b</sup> ± 0.34  | 5.76 <sup>b</sup> ± 0.35  | 5.00 <sup>b</sup> ± 0.42  | 5.28 <sup>a</sup> ± 0.39 | 5.24 <sup>b</sup> ± 0.43  | 5.52 <sup>b</sup> ± 0.38  |
| ชาดำ:สระแทน (2:1) | 5.80 <sup>ab</sup> ± 0.33 | 6.12 <sup>ab</sup> ± 0.30 | 5.68 <sup>ab</sup> ± 0.39 | 5.60 <sup>a</sup> ± 0.36 | 5.76 <sup>ab</sup> ± 0.36 | 6.00 <sup>ab</sup> ± 0.32 |
| ชาดำ:สระแทน (1:1) | 6.56 <sup>a</sup> ± 0.33  | 6.76 <sup>a</sup> ± 0.29  | 6.40 <sup>a</sup> ± 0.37  | 5.68 <sup>a</sup> ± 0.42 | 6.48 <sup>a</sup> ± 0.33  | 6.76 <sup>a</sup> ± 0.31  |
| ชาดำ:สระแทน (1:2) | 6.68 <sup>a</sup> ± 0.27  | 6.80 <sup>a</sup> ± 0.28  | 6.00 <sup>ab</sup> ± 0.41 | 5.44 <sup>a</sup> ± 0.33 | 5.80 <sup>ab</sup> ± 0.44 | 6.28 <sup>ab</sup> ± 0.41 |
| ชาดำ:สระแทน (1:3) | 6.44 <sup>ab</sup> ± 0.32 | 6.44 <sup>ab</sup> ± 0.31 | 5.88 <sup>ab</sup> ± 0.41 | 5.56 <sup>a</sup> ± 0.42 | 5.88 <sup>ab</sup> ± 0.37 | 6.32 <sup>ab</sup> ± 0.39 |

\*หมายเหตุ

- คะแนนความพึงพอใจในการทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 25 ซ้ำ
- <sup>ab</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำผสมเก๋ากี้ หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 10 วัน

| ตัวอย่างชาหมัก     | ความใส                   | สี                        | ความเปรี้ยว               | ความหวาน                  | ความกลมกล่อม              | ความชอบโดยรวม              |
|--------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| ชาดำ:เก๋ากี้ (1:0) | 5.72 <sup>a</sup> ± 0.33 | 5.64 <sup>ab</sup> ± 0.36 | 6.04 <sup>a</sup> ± 0.39  | 6.00 <sup>a</sup> ± 0.42  | 6.64 <sup>a</sup> ± 0.38  | 6.56 <sup>ab</sup> ± 0.40  |
| ชาดำ:เก๋ากี้ (3:1) | 5.12 <sup>a</sup> ± 0.40 | 5.00 <sup>b</sup> ± 0.44  | 4.72 <sup>b</sup> ± 0.43  | 5.28 <sup>ab</sup> ± 0.42 | 5.48 <sup>ab</sup> ± 0.42 | 5.44 <sup>bc</sup> ± 0.45  |
| ชาดำ:เก๋ากี้ (2:1) | 5.08 <sup>a</sup> ± 0.31 | 5.04 <sup>b</sup> ± 0.32  | 5.56 <sup>ab</sup> ± 0.36 | 5.84 <sup>ab</sup> ± 0.24 | 5.76 <sup>a</sup> ± 0.36  | 6.00 <sup>abc</sup> ± 0.33 |
| ชาดำ:เก๋ากี้ (1:1) | 6.12 <sup>a</sup> ± 0.35 | 5.96 <sup>ab</sup> ± 0.27 | 6.36 <sup>a</sup> ± 0.32  | 6.20 <sup>a</sup> ± 0.33  | 6.68 <sup>a</sup> ± 0.26  | 6.72 <sup>a</sup> ± 0.26   |
| ชาดำ:เก๋ากี้ (1:2) | 5.88 <sup>a</sup> ± 0.33 | 6.12 <sup>a</sup> ± 0.30  | 4.56 <sup>b</sup> ± 0.52  | 4.80 <sup>b</sup> ± 0.43  | 4.60 <sup>b</sup> ± 0.44  | 4.96 <sup>c</sup> ± 0.45   |
| ชาดำ:เก๋ากี้ (1:3) | 5.96 <sup>a</sup> ± 0.42 | 6.00 <sup>ab</sup> ± 0.36 | 5.68 <sup>ab</sup> ± 0.42 | 5.64 <sup>ab</sup> ± 0.36 | 6.04 <sup>a</sup> ± 0.40  | 6.16 <sup>ab</sup> ± 0.37  |

\*หมายเหตุ

- คะแนนความพึงพอใจในการทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 25 ซ้ำ
- เอกสารฉบับนี้จัดทำขึ้นไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- <sup>ab</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

## 4.2 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของคอมบูชาที่หมักร่วมกับสมุนไพรในอัตราส่วน 1:1

### 4.2.1 ค่าพีเอช โดยใช้ pH meter

จากการหมักคอมบูชา (ชาดำ) และชาดำผสมสมุนไพรแต่ละชนิด ได้แก่ ชาดำผสมขิง ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ ในอัตราส่วน 1:1 เป็นระยะเวลา 20 วัน เก็บตัวอย่างทุกๆ 5 วัน คือ วันที่ 0, 5, 10, 15 และ 20 พบว่าพีเอชของน้ำหมักแต่ละชนิดจะมีค่าลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก แสดงดังตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าพีเอชเริ่มต้นของคอมบูชาและคอมบูชาผสมสมุนไพรแต่ละชนิดจะมีค่าใกล้เคียงกัน เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้นค่าพีเอชของคอมบูชาแต่ละชนิดจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยเฉพาะคอมบูชา (ชาดำ) ในวันสุดท้ายของการหมัก (20 วัน) พบว่าคอมบูชา (ชาดำ) ชาดำผสมขิง ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ มีค่าพีเอช  $2.55 \pm 0.88$   $2.81 \pm 0.13$   $2.64 \pm 0.04$  และ  $2.76 \pm 0.04$  ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sreeramula และคณะ (2000) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จากคอมบูชา พบว่าค่าพีเอชลดลงอย่างต่อเนื่อง จาก 5.0 ถึง 2.0 ในระหว่างการหมัก เนื่องจากปริมาณกรดอินทรีย์ในคอมบูชาเพิ่มสูงขึ้น

ตารางที่ 4.4 ค่าพีเอชในคอมบูชาแต่ละชนิด หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

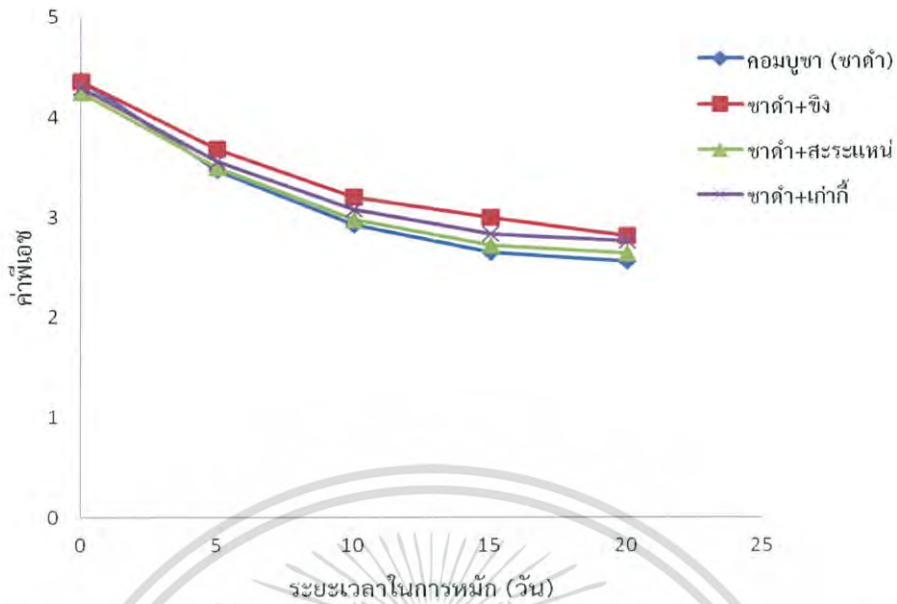
| ระยะเวลาการหมัก (วัน) | ค่าพีเอช             |                   |                   |                   |
|-----------------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                       | คอมบูชา(ชาดำ)        | ชาดำผสมขิง        | ชาดำผสมสะระแหน่   | ชาดำผสมเก๋ากี้    |
| 0                     | $4.37^a \pm 1.28$    | $4.36^a \pm 0.04$ | $4.24^a \pm 0.04$ | $4.29^a \pm 0.04$ |
| 5                     | $3.47^b \pm 0.05$    | $3.68^b \pm 0.11$ | $3.50^b \pm 0.03$ | $3.56^b \pm 0.02$ |
| 10                    | $2.92^c \pm 0.13$    | $3.20^c \pm 0.15$ | $2.97^c \pm 0.05$ | $3.08^c \pm 0.04$ |
| 15                    | $2.65^{cd} \pm 0.95$ | $2.99^c \pm 0.16$ | $2.72^d \pm 0.05$ | $2.83^d \pm 0.03$ |
| 20                    | $2.55^d \pm 0.88$    | $2.81^c \pm 0.13$ | $2.64^d \pm 0.04$ | $2.76^d \pm 0.04$ |

\*หมายเหตุ

- ค่าพีเอชแสดงในรูปค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

- <sup>abcd</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่

เอกสารระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 ค่าพื้นที่ใบของคอมบูชาแต่ละชนิด หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

#### 4.2.2 ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติก

ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติกของคอมบูชาแต่ละชนิดจะเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก ซึ่งสัมพันธ์กับค่าพีเอชที่ลดลง โดยในช่วงวันที่ 5-20 ของการหมักคอมบูชาแต่ละชนิด ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 วันสุดท้ายของการหมัก (20 วัน) คอมบูชา (ขาดำ) ขาดำผสมขิง ขาดำผสมสระแหน่ และขาดำผสมแก๊ก มีปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติกสูงสุด ร้อยละ  $1.26 \pm 0.11$   $0.87 \pm 0.16$   $1.60 \pm 0.11$  และ  $1.26 \pm 0.09$  ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.2 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chakravorty และคณะ (2016) ได้ศึกษากลุ่มของจุลินทรีย์และฤทธิ์ทางชีวเคมีของคอมบูชาในระยะเวลาการหมัก 21 วัน พบว่าปริมาณกรดอะซิติกเพิ่มตามระยะเวลาของการหมักและสูงที่สุดในวันสุดท้ายของการหมัก (21 วัน)

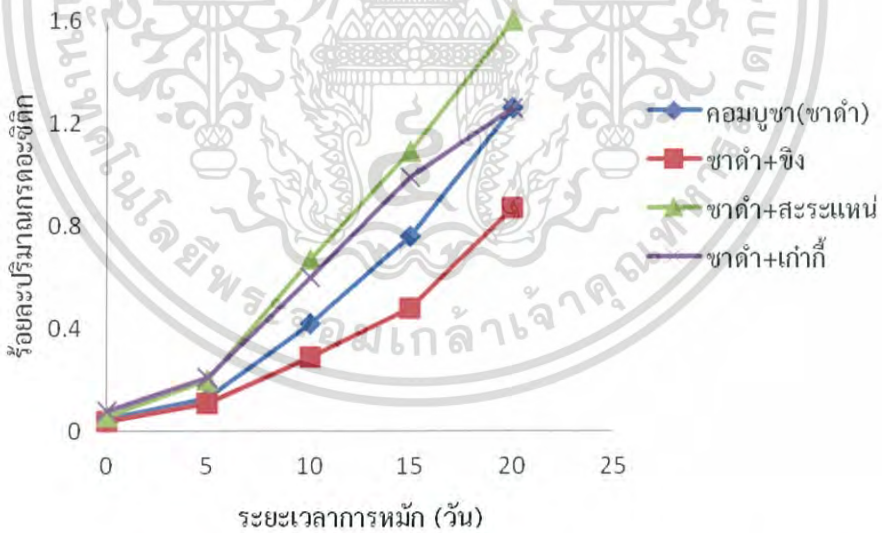
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในคอมบูชาแต่ละชนิด หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| ระยะเวลาการหมัก (วัน) | ปริมาณร้อยละของกรดอะซิติก |                           |                          |                          |
|-----------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                       | คอมบูชา(ชาดำ)             | ชาดำผสมชিং                | ชาดำผสมสะระแหน่          | ชาดำผสมเก๋ากี้           |
| 0                     | 0.05 <sup>d</sup> ± 0.01  | 0.04 <sup>c</sup> ± 0.00  | 0.06 <sup>d</sup> ± 0.00 | 0.08 <sup>d</sup> ± 0.01 |
| 5                     | 0.13 <sup>d</sup> ± 0.01  | 0.11 <sup>c</sup> ± 0.02  | 0.20 <sup>d</sup> ± 0.02 | 0.21 <sup>d</sup> ± 0.01 |
| 10                    | 0.42 <sup>c</sup> ± 0.04  | 0.29 <sup>bc</sup> ± 0.07 | 0.67 <sup>c</sup> ± 0.06 | 0.60 <sup>c</sup> ± 0.02 |
| 15                    | 0.76 <sup>b</sup> ± 0.05  | 0.48 <sup>b</sup> ± 0.11  | 1.09 <sup>b</sup> ± 0.11 | 0.99 <sup>b</sup> ± 0.04 |
| 20                    | 1.26 <sup>a</sup> ± 0.11  | 0.87 <sup>a</sup> ± 0.16  | 1.60 <sup>a</sup> ± 0.11 | 1.26 <sup>a</sup> ± 0.09 |

\*หมายเหตุ

- ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ
- <sup>abcd</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.2 ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในคอมบูชาแต่ละชนิดหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.2.3 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Total soluble solid) โดยใช้ Hand refractometer

จากการหมักคอมบูชาผสมสมุนไพรแต่ละชนิด เป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่า คอมบูชา (ชาดำ) ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ลดลงตามระยะเวลาการหมัก โดยพบว่าในวันที่ 20 คอมบูชา (ชาดำ) ชาดำผสมขิง ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้  $11.73 \pm 0.44$   $9.43 \pm 0.22$   $11.20 \pm 0.35$  และ  $10.93 \pm 0.33$  องศาบริกซ์ ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.6 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Greenwalt และคณะ (2000) ได้ศึกษาพบว่าวันที่ 30 ของกระบวนการหมักปริมาณน้ำตาลซูโครสและน้ำตาลฟรุคโตสมีค่าลดลง ขณะที่น้ำตาลกลูโคสมีค่าเพิ่มสูงขึ้น เนื่องมาจากน้ำตาลซูโครสสลายตัวให้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวออกมา

ตารางที่ 4.6 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในคอมบูชาแต่ละชนิด หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| ระยะเวลาการหมัก (วัน) | ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ |                       |                       |                       |
|-----------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|                       | คอมบูชา(ชาดำ)                   | ชาดำผสมขิง            | ชาดำผสมสะระแหน่       | ชาดำผสมเก๋ากี้        |
| 0                     | $12.20^a \pm 0.06$              | $10.40^a \pm 0.12$    | $13.10^a \pm 0.80$    | $11.33^b \pm 0.59$    |
| 5                     | $12.43^a \pm 0.03$              | $10.07^{ab} \pm 0.07$ | $13.07^a \pm 0.18$    | $12.67^a \pm 0.13$    |
| 10                    | $12.07^a \pm 0.41$              | $9.97^b \pm 0.03$     | $12.00^{ab} \pm 0.35$ | $11.70^{ab} \pm 0.26$ |
| 15                    | $11.77^a \pm 0.09$              | $9.87^b \pm 0.03$     | $11.93^{ab} \pm 0.22$ | $11.70^{ab} \pm 0.38$ |
| 20                    | $11.73^a \pm 0.44$              | $9.43^c \pm 0.22$     | $11.20^b \pm 0.35$    | $10.93^b \pm 0.33$    |

\*หมายเหตุ

- ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้แสดงในรูปค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ
- <sup>abc</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3 การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชาที่หมักร่วมกับสมุนไพรในอัตราส่วน 1:1

#### 4.3.1 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดีพีพีเอชของคอมบูชาที่หมักร่วมกับสมุนไพร ได้แก่ ings สาระแหน่ และเก๋ากี้ ในอัตราส่วน 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน เก็บตัวอย่าง ทุกๆ 5 วัน คือวันที่ 0, 5, 10, 15 และ 20 พบว่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชมีค่าเพิ่มขึ้น ตลอดระยะเวลาการหมัก ในวันสุดท้ายของการหมักคอมบูชาแต่ละชนิดมีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยคอมบูชา (ชาดำ) ชาดำผสมขิง ชาดำผสมสาระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ มีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ  $86.26 \pm 0.24$   $87.32 \pm 0.76$   $90.39 \pm 0.23$  และ  $89.56 \pm 0.56$  ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Aleksandra และคณะ (2007) ศึกษากิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและสารต้านอนุมูลอิสระของชาหมักสาระแหน่ ในระยะเวลาการหมัก 7-10 วัน พบว่าชาหมักสาระแหน่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าคอมบูชาดั้งเดิม ประมาณร้อยละ 10 และงานวิจัยของ Chu และ Chen (2005) ศึกษาระยะเวลาการหมักคอมบูชาที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เป็นระยะเวลา 15 วัน ทำการเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์ที่ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 พบว่าในการวิเคราะห์ด้วย วิธี DPPH วิธี ABTS และการยับยั้งกรดลิกโนเลอิกด้วยวิธีเปอร์ออกซิเดชัน มีค่าการต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 70 40 และ 49 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.7 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในคอมบูชาแต่ละชนิดในวันที่ 0-20 ของการหมัก

| ระยะเวลาการหมัก | ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ |                    |                    |                    |
|-----------------|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                 | คอมบูชา(ชาดำ)            | ชาดำผสมขิง         | ชาดำผสมสาระแหน่    | ชาดำผสมเก๋ากี้     |
| 0               | $73.63^e \pm 0.57$       | $71.86^c \pm 0.76$ | $69.65^d \pm 0.48$ | $73.96^d \pm 0.84$ |
| 5               | $76.64^d \pm 0.38$       | $78.66^b \pm 0.66$ | $83.77^c \pm 0.29$ | $79.51^c \pm 0.61$ |
| 10              | $83.05^c \pm 0.28$       | $86.89^a \pm 0.49$ | $84.18^c \pm 0.25$ | $85.83^b \pm 0.58$ |
| 15              | $85.21^b \pm 0.25$       | $86.74^a \pm 1.01$ | $85.39^b \pm 0.31$ | $86.63^b \pm 0.33$ |
| 20              | $86.26^a \pm 0.24$       | $87.32^a \pm 0.76$ | $90.39^a \pm 0.23$ | $89.56^a \pm 0.56$ |

\*หมายเหตุ

- ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระแสดงในรูปค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 18 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- abcde ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

#### 4.3.2 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชาที่หมักร่วมกับสมุนไพรแต่ละชนิด ได้แก่ ขิง สะระแหน่ และเก๋ากี้ในอัตราส่วน 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน เก็บตัวอย่างทุกๆ 5 วัน คือวันที่ 0, 5, 10, 15 และ 20 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคเพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 10–20 ของการหมัก แสดงดังตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.3, 4.4 และ 4.5 โดยเฉพาะชาดำผสมสะระแหน่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบใกล้เคียงกัน แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* ได้ ในวันที่ 20 ของการหมัก พบว่าฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชา (ชาดำ) ชาดำผสมขิง ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ มีบริเวณการยับยั้งจุลินทรีย์อยู่ในช่วง  $6.94 \pm 0.25$  ถึง  $11.65 \pm 0.39$   $6.77 \pm 0.19$  ถึง  $10.98 \pm 0.26$   $7.86 \pm 0.47$  ถึง  $12.51 \pm 0.66$   $6.43 \pm 0.12$  ถึง  $11.60 \pm 0.19$  มิลลิเมตรตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.8 จากการทดลองจะพบว่าชาดำผสมสะระแหน่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบสูงกว่าคอมบูชาชนิดอื่น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Aleksandra และคณะ (2007) ศึกษากิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและสารต้านอนุมูลอิสระของชาหมักสะระแหน่ โดยใช้ระยะเวลาในการหมัก 7-10 วัน พบว่าชาหมักสะระแหน่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์สูงกว่าในชาหมักคอมบูชาแบบดั้งเดิม ประมาณร้อยละ 5-10 งานวิจัยของ Battikh และคณะ (2012) ศึกษาการยับยั้งเชื้อยีสต์ก่อโรคสายพันธุ์ *Candida* sp. โดยทำการหมักชาดำร่วมกับสมุนไพรทั้งหมด 5 ชนิด และทดสอบด้วยวิธีการ agar diffusion พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าคอมบูชาแบบดั้งเดิม โดยเฉพาะเมื่อทำการหมักร่วมกับพืช *L. citriodora* และ *F. vulgare* และในงานวิจัยของ Burakorn และคณะ (2012) ทำการศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรไทยที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจำนวน 4 สายพันธุ์ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, *Klebsiella pneumoniae* ATCC27736, *Staphylococcus aureus* ATCC6538 ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดสะระแหน่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *K. pneumoniae* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชาแต่ละชนิดในวันที่ 0-20 ของการหมัก

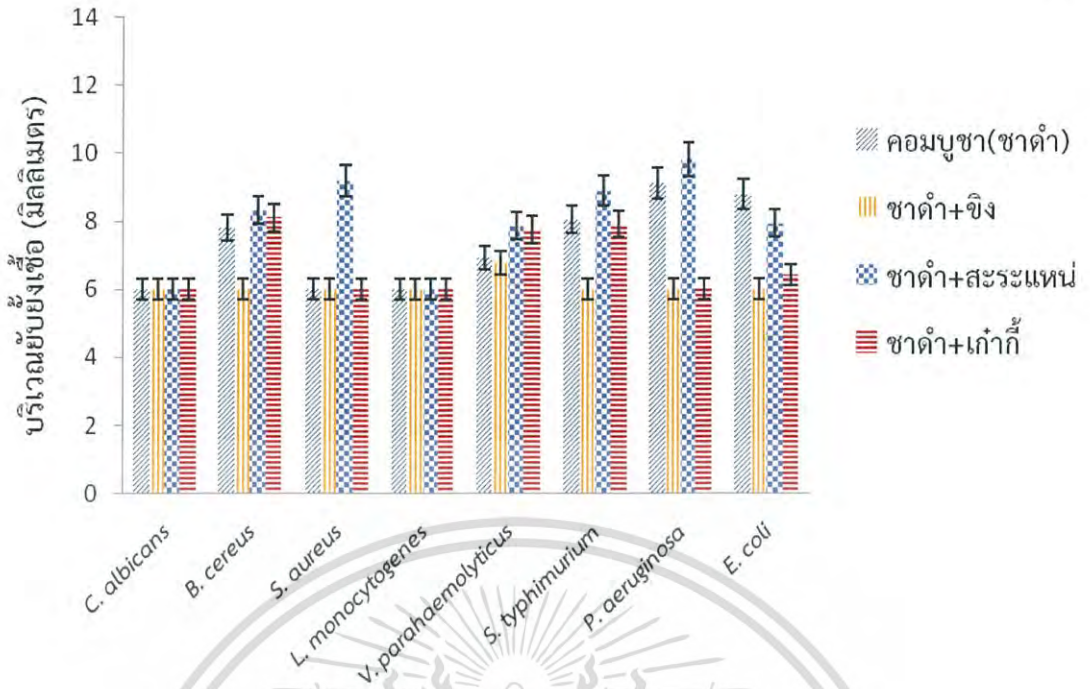
| ระยะเวลาการหมัก (วัน) | ตัวอย่างที่ซัดทดสอบ | เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งจุลินทรีย์ (มิลลิเมตร±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) |                           |                           |                           |                            |                           |                           |                           |
|-----------------------|---------------------|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                       |                     | ยีสต์  | แบคทีเรียแกรมบวก          |                           |                           | แบคทีเรียแกรมลบ            |                           |                           |                           |
|                       |                     | <i>C. albicans</i>   | <i>B. cereus</i>          | <i>S. aureus</i>          | <i>L. monocytogenes</i>   | <i>V. parahaemolyticus</i> | <i>S. typhimurium</i>     | <i>P. aeruginosa</i>      | <i>E. coli</i>            |
| 0                     | ชาดำไม่ใส่น้ำตาล    | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  |
|                       | คอมบูชา(ชาดำ)       | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  |
|                       | ชาดำผสมขิง          | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  |
|                       | ชาดำผสมสะระแหน่     | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  |
|                       | ชาดำผสมเก๋ากี้      | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  |
|                       | ยาปฏิชีวนะ          | 14.39 <sup>a</sup> ± 0.43  | 12.42 <sup>a</sup> ± 0.36 | 13.92 <sup>a</sup> ± 0.27 | 11.32 <sup>a</sup> ± 0.45 | 13.43 <sup>a</sup> ± 0.29  | 13.81 <sup>a</sup> ± 0.54 | 13.82 <sup>a</sup> ± 0.08 | 14.41 <sup>a</sup> ± 0.36 |
| 5                     | ชาดำไม่ใส่น้ำตาล    | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  |
|                       | คอมบูชา(ชาดำ)       | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  |
|                       | ชาดำผสมขิง          | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  |
|                       | ชาดำผสมสะระแหน่     | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  |
|                       | ชาดำผสมเก๋ากี้      | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  |
|                       | ยาปฏิชีวนะ          | 14.43 <sup>a</sup> ± 0.32  | 12.30 <sup>a</sup> ± 0.20 | 11.38 <sup>a</sup> ± 0.07 | 10.91 <sup>a</sup> ± 0.52 | 14.52 <sup>a</sup> ± 0.42  | 15.23 <sup>a</sup> ± 0.28 | 13.77 <sup>a</sup> ± 0.46 | 14.30 <sup>a</sup> ± 0.26 |
| 10                    | ชาดำไม่ใส่น้ำตาล    | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>e</sup> ± 0.00  |
|                       | คอมบูชา(ชาดำ)       | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 7.81 <sup>c</sup> ± 0.18  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.94 <sup>c</sup> ± 0.25   | 8.06 <sup>c</sup> ± 0.19  | 9.13 <sup>c</sup> ± 0.19  | 8.80 <sup>b</sup> ± 0.15  |
|                       | ชาดำผสมขิง          | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.77 <sup>c</sup> ± 0.19   | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>e</sup> ± 0.00  |
|                       | ชาดำผสมสะระแหน่     | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 8.33 <sup>b</sup> ± 0.25  | 9.20 <sup>b</sup> ± 0.27  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 7.86 <sup>b</sup> ± 0.47   | 8.89 <sup>b</sup> ± 0.05  | 9.80 <sup>b</sup> ± 0.13  | 7.94 <sup>c</sup> ± 0.26  |
|                       | ชาดำผสมเก๋ากี้      | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00   | 8.11 <sup>bc</sup> ± 0.11 | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 7.75 <sup>b</sup> ± 0.06   | 7.92 <sup>c</sup> ± 0.20  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  | 6.43 <sup>d</sup> ± 0.12  |
|                       | ยาปฏิชีวนะ          | 14.69 <sup>a</sup> ± 0.38  | 12.14 <sup>a</sup> ± 0.12 | 13.45 <sup>a</sup> ± 0.18 | 11.31 <sup>a</sup> ± 0.15 | 13.64 <sup>a</sup> ± 0.19  | 13.63 <sup>a</sup> ± 0.62 | 13.14 <sup>a</sup> ± 0.24 | 14.27 <sup>a</sup> ± 0.12 |

ตารางที่ 4.8 (ต่อ) แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชาแต่ละชนิดในวันที่ 0-20 ของการหมัก

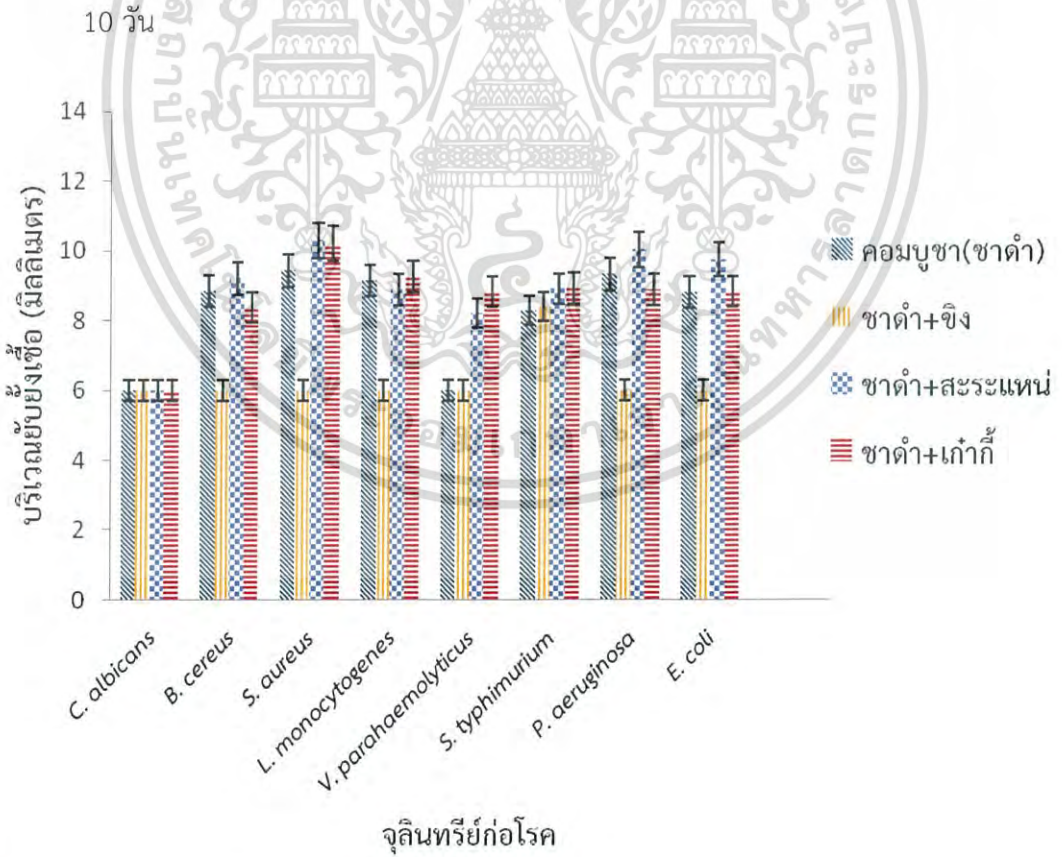
| ระยะเวลาการหมัก (วัน) | ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ | การยับยั้งเชื้อ           |                           |                           |                           |                            |                           |                            |                           |
|-----------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
|                       |                     | ยีสต์                     | แบคทีเรียแกรมบวก          |                           |                           | แบคทีเรียแกรมลบ            |                           |                            |                           |
|                       |                     | <i>C. albicans</i>        | <i>B. cereus</i>          | <i>S. aureus</i>          | <i>L. monocytogenes</i>   | <i>V. parahaemolyticus</i> | <i>S. typhimurium</i>     | <i>P. aeruginosa</i>       | <i>E. coli</i>            |
| 15                    | ชาดำไม่ใส่น้ำตาล    | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  |
|                       | ชาดำผสมขิง          | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 8.85 <sup>bc</sup> ± 0.09 | 9.42 <sup>c</sup> ± 0.23  | 9.14 <sup>b</sup> ± 0.10  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00   | 8.29 <sup>b</sup> ± 0.34  | 9.31 <sup>c</sup> ± 0.09   | 8.80 <sup>c</sup> ± 0.15  |
|                       | ชาดำผสมสะระแหน่     | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00   | 8.40 <sup>b</sup> ± 0.16  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  |
|                       | ชาดำผสมเก๋ากี้      | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 9.20 <sup>b</sup> ± 0.48  | 10.29 <sup>b</sup> ± 0.08 | 8.87 <sup>b</sup> ± 0.24  | 8.20 <sup>c</sup> ± 0.20   | 8.90 <sup>b</sup> ± 0.57  | 10.03 <sup>b</sup> ± 0.22  | 9.74 <sup>b</sup> ± 0.52  |
|                       | ชาดำผสมขิง          | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 8.38 <sup>c</sup> ± 0.11  | 10.20 <sup>b</sup> ± 0.29 | 9.25 <sup>b</sup> ± 0.18  | 8.83 <sup>b</sup> ± 0.25   | 8.93 <sup>b</sup> ± 0.15  | 8.87 <sup>c</sup> ± 0.24   | 8.83 <sup>c</sup> ± 0.28  |
|                       | ยาปฏิชีวนะ          | 13.73 <sup>a</sup> ± 0.21 | 11.94 <sup>a</sup> ± 0.29 | 12.49 <sup>a</sup> ± 0.47 | 12.50 <sup>a</sup> ± 0.37 | 13.33 <sup>a</sup> ± 0.19  | 14.27 <sup>a</sup> ± 0.49 | 13.42 <sup>a</sup> ± 0.19  | 15.05 <sup>a</sup> ± 0.23 |
| 20                    | ชาดำไม่ใส่น้ำตาล    | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>e</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>e</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  |
|                       | คอมบูชา(ชาดำ)       | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 9.34 <sup>bc</sup> ± 0.20 | 10.60 <sup>c</sup> ± 0.21 | 9.60 <sup>b</sup> ± 0.13  | 9.87 <sup>c</sup> ± 0.28   | 9.74 <sup>b</sup> ± 0.21  | 11.65 <sup>bc</sup> ± 0.39 | 9.10 <sup>c</sup> ± 0.15  |
|                       | ชาดำผสมขิง          | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 9.22 <sup>c</sup> ± 0.35  | 9.90 <sup>d</sup> ± 0.15  | 9.81 <sup>b</sup> ± 0.55  | 9.84 <sup>c</sup> ± 0.13   | 9.83 <sup>b</sup> ± 0.52  | 10.98 <sup>c</sup> ± 0.26  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  |
|                       | ชาดำผสมสะระแหน่     | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 10.31 <sup>b</sup> ± 0.28 | 12.18 <sup>b</sup> ± 0.08 | 11.37 <sup>a</sup> ± 0.09 | 9.29 <sup>d</sup> ± 0.14   | 10.33 <sup>b</sup> ± 0.22 | 12.51 <sup>b</sup> ± 0.66  | 9.88 <sup>b</sup> ± 0.33  |
|                       | ชาดำผสมเก๋ากี้      | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 9.71 <sup>bc</sup> ± 0.30 | 11.05 <sup>c</sup> ± 0.34 | 11.26 <sup>a</sup> ± 0.33 | 10.40 <sup>b</sup> ± 0.23  | 9.86 <sup>b</sup> ± 0.30  | 11.60 <sup>bc</sup> ± 0.19 | 8.91 <sup>c</sup> ± 0.36  |
|                       | ยาปฏิชีวนะ          | 13.75 <sup>a</sup> ± 0.20 | 13.34 <sup>a</sup> ± 0.58 | 13.43 <sup>a</sup> ± 0.09 | 12.06 <sup>a</sup> ± 0.34 | 14.35 <sup>a</sup> ± 0.11  | 15.16 <sup>a</sup> ± 0.23 | 14.72 <sup>a</sup> ± 0.39  | 13.67 <sup>a</sup> ± 0.17 |

\*หมายเหตุ

- ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคแสดงในรูปค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดสอบ 5 ซ้ำ
- <sup>abcd</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- การวิเคราะห์สถิติเปรียบเทียบในแต่ละวันของการหมัก



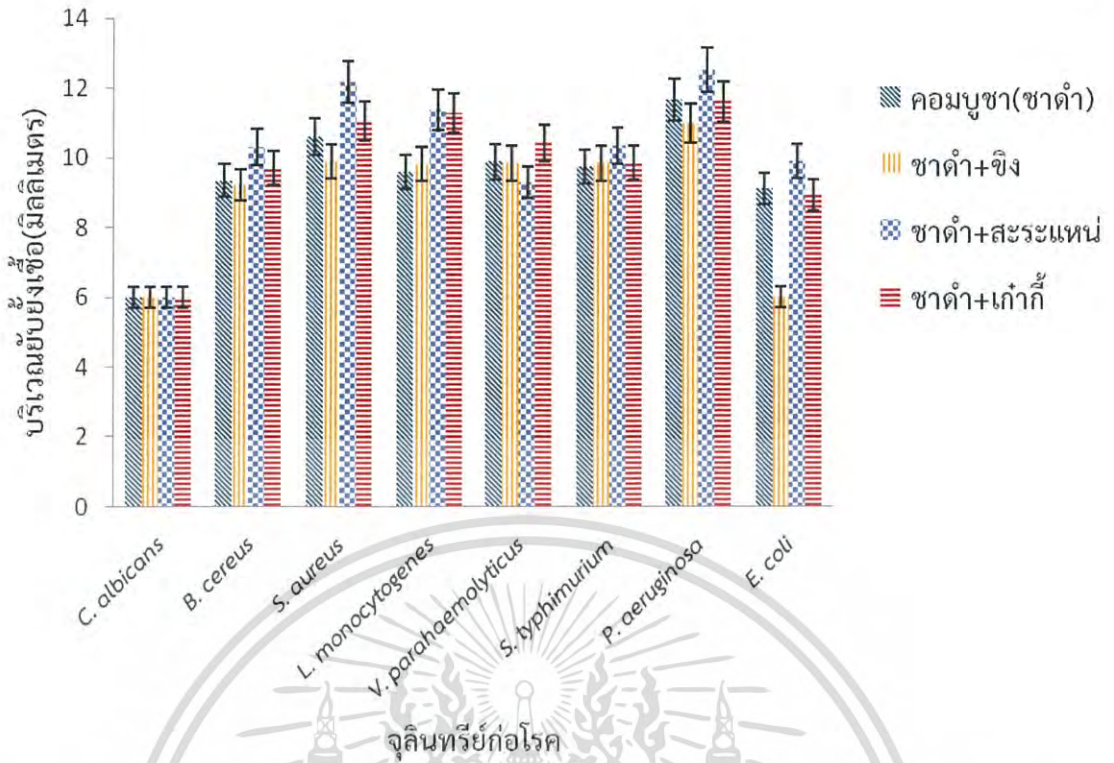
รูปที่ 4.3 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมมูซาแต่ละชนิดในระยะเวลาการหมัก



รูปที่ 4.4 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมมูซาแต่ละชนิดในระยะเวลาการหมัก

15 วัน

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 ภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมมบูชาแต่ละชนิดในระยะเวลาการหมัก 20 วัน

#### 4.4 การศึกษาการปรับปรุงรสชาติของคอมมบูชาชนิดต่างๆและทดสอบทางประสาทสัมผัส

จากการศึกษาด้านการปรับปรุงรสชาติของคอมมบูชาชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนของชาหมักต่อน้ำสมุนไพรต่อชาดำหวานที่แตกต่างกันทั้งหมด 5 สูตร คือ 1:2:2 1:2:1 1:1:1 2:1:1 และ 2:2:1 ตามลำดับ พบว่าสูตรในการปรับปรุงที่ผู้บริโภคริ่พอใจมากที่สุดของชาดำผสมขิง และชาดำผสมเก๋ากี้ ได้แก่สูตรที่ 5 คือ อัตราส่วน 2:2:1 ส่วนชาดำผสมเก๋ากี้ผู้บริโภคริ่พอใจในสูตรที่ 4 มากที่สุด คือ อัตราส่วน 2:1:1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.5 การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชาที่หมักร่วมกับสมุนไพรก่อนและหลังปรับปรุงรสชาติ

##### 4.5.1 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระก่อนและหลังปรับปรุงรสชาติ

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดีพีพีเอชของคอมบูชาที่หมักร่วมกับสมุนไพรแต่ละชนิด ได้แก่ ขิง สะระแหน่ และเก๋ากี้ ในอัตราส่วน 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่าคอมบูชา (ชาดำ) ชาดำผสมขิง ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ มีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกันคือ  $86.92 \pm 0.43$   $86.36 \pm 0.42$   $89.47 \pm 0.48$  และ  $88.67 \pm 0.10$  ตามลำดับ หลังจากนั้นเมื่อทำการปรับปรุงรสชาติโดยการเติมชาดำหวาน และน้ำสมุนไพรลงไป โดยชาดำผสมขิง และชาดำผสมเก๋ากี้จะใช้อัตราส่วนชาหมักต่อน้ำสมุนไพรต่อชาดำหวาน คือ 2:2:1 ส่วนชาดำผสมสะระแหน่จะใช้อัตราส่วนชาหมักต่อน้ำสมุนไพรต่อชาดำหวาน คือ 2:1:1 พบว่าคอมบูชา (ชาดำ) ชาดำผสมขิง ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ มีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระลดลงจากเดิมเพียงเล็กน้อยคือ  $82.48 \pm 0.60$   $85.99 \pm 0.41$   $84.90 \pm 0.40$  และ  $82.86 \pm 0.52$  ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.6

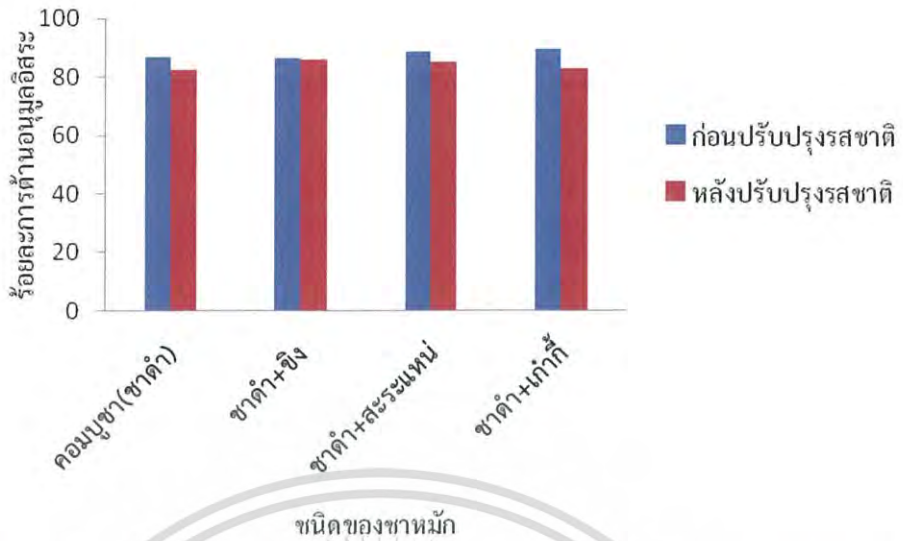
ตารางที่ 4.9 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังปรับปรุงรสชาติในวันที่ 20 ของการหมัก

| ชนิดของชาหมัก        | ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ ดีพีพีเอช ระยะการหมัก 20 วัน |                    | การต้านอนุมูลอิสระ ดีพีพีเอชลดลงร้อยละ |
|----------------------|--|--------------------|--|
|                      | ก่อนปรับปรุง   | หลังปรับปรุง       |  |
| ชาหมักคอมบูชา (ชาดำ) | $86.92^b \pm 0.43$                                       | $82.48^b \pm 0.60$ | 4.44                                   |
| ชาดำผสมขิง           | $86.36^b \pm 0.42$                                       | $85.99^a \pm 0.41$ | 0.37                                   |
| ชาดำผสมสะระแหน่      | $89.47^a \pm 0.48$                                       | $84.90^a \pm 0.40$ | 4.57                                   |
| ชาดำผสมเก๋ากี้       | $88.67^a \pm 0.10$                                       | $82.86^b \pm 0.52$ | 5.81                                   |

\*หมายเหตุ

- ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระก่อนและหลังปรับปรุงรสชาติแสดงในรูปค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 6 ซ้ำ
- <sup>ab</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังปรับปรุงรสชาติในวันที่ 20 ของการหมัก

#### 4.5.2 ฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคก่อนและหลังปรับปรุงรสชาติ

จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชาที่หมักร่วมกับสมุนไพรแต่ละชนิด ได้แก่ ขิง สะระแหน่ และเก๋ากี้ ในอัตราส่วน 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่า คอมบูชา (ชาดำ) ชาดำผสมขิง ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ มีบริเวณยับยั้งเชื้ออยู่ในช่วง  $8.81 \pm 0.41$  ถึง  $10.02 \pm 0.18$   $8.90 \pm 0.00$  ถึง  $10.82 \pm 0.26$   $8.92 \pm 0.16$  ถึง  $12.28 \pm 0.19$   $8.96 \pm 0.27$  ถึง  $11.77 \pm 0.22$  มิลลิเมตรตามลำดับ หลังจากนั้นเมื่อทำการปรับปรุงรสชาติโดยการเติมน้ำชาดำหวาน และน้ำสมุนไพรลงไป โดยชาดำผสมขิงและชาดำผสมเก๋ากี้ใช้อัตราส่วนขากหมักต่อน้ำสมุนไพรต่อชาดำหวาน คือ 2:2:1 ส่วนชาดำผสมสะระแหน่ใช้อัตราส่วน คือ 2:1:1 พบว่าคอมบูชา (ชาดำ) ชาดำผสมขิง ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ มีบริเวณยับยั้งเชื้ออยู่ในช่วง  $6.34 \pm 0.17$  ถึง  $8.97 \pm 0.41$   $6.09 \pm 0.07$  ถึง  $8.30 \pm 0.05$   $6.37 \pm 0.17$  ถึง  $8.37 \pm 0.39$   $6.04 \pm 0.02$  ถึง  $8.68 \pm 0.30$  มิลลิเมตรตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทั้งก่อนและหลังปรับปรุงพบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* ได้ แสดงดังตารางที่ 4.10 รูปที่ 4.7 และ 4.8 ซึ่งงานวิจัยของ Aleksandra และคณะ (2007) ศึกษากิจกรรมการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในขากหมักสะระแหน่ก่อนและหลังให้ความร้อน โดยทำการหมักขากหมักสะระแหน่เป็นระยะเวลาในการหมัก 7-10 วัน พบว่าเมื่อนำขากหมักสะระแหน่ให้ความร้อน พบว่าขากหมักสะระแหน่ที่ผ่านการให้ความร้อนมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์สูงขึ้นเล็กน้อยประมาณร้อยละ 1-2 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันกับขากหมักสะระแหน่ที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน จากการทดลองนี้ฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ลดลงอาจเนื่องมาจากในขั้นตอนของการปรับปรุงรสชาติมีการเติมน้ำชาดำหวานและน้ำสมุนไพรลงไป ทำให้น้ำหมักถูกเจือจางลง เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

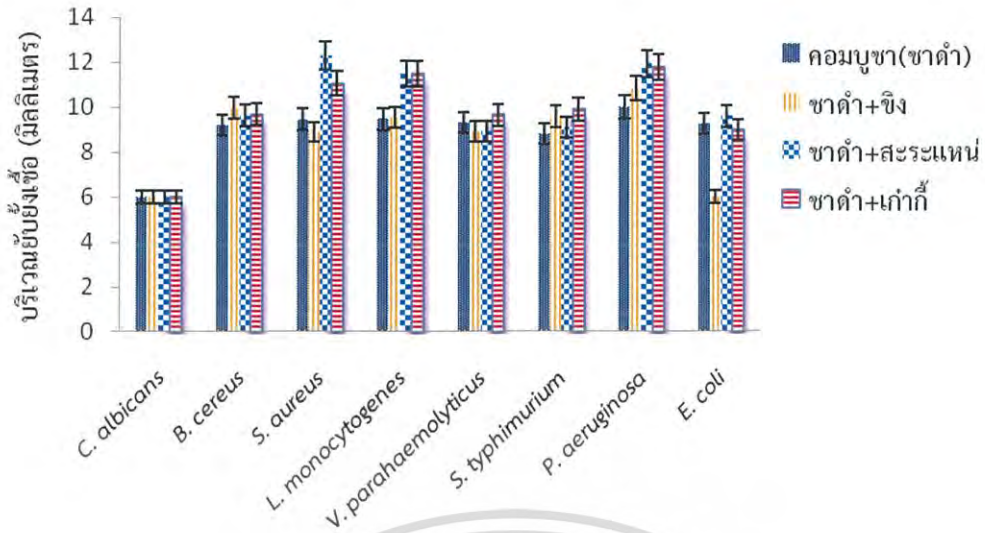
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังปรับปรุงรสชาติในวันที่ 20 ของการหมัก

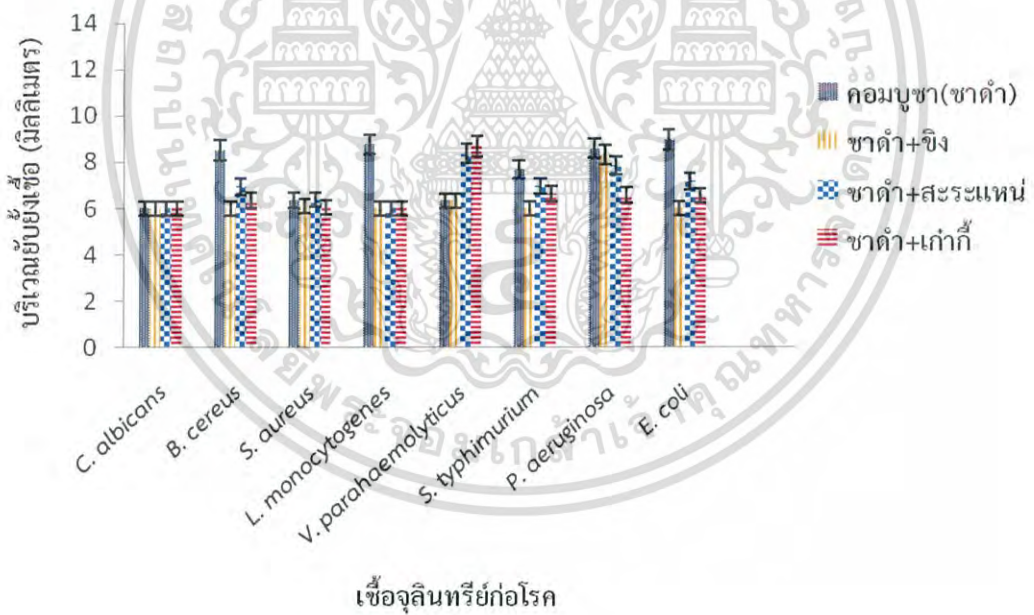
| ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ   |              | การยับยั้งเชื้อ           |                           |                           |                           |                            |                           |                           |                           |
|---|--------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|   |              | ยีสต์                     | แบคทีเรียแกรมบวก          |                           |                           | แบคทีเรียแกรมลบ            |                           |                           |                           |
|   |              | <i>C. albicans</i>        | <i>B. cereus</i>          | <i>S. aureus</i>          | <i>L. monocytogenes</i>   | <i>V. parahaemolyticus</i> | <i>S. typhimurium</i>     | <i>P. aeruginosa</i>      | <i>E. coli</i>            |
| ชาดำที่ไม่ผ่านการหมัก<br>คอมบูชา(ชาดำ)<br>ชาดำผสมขิง<br>ชาดำผสมสะระแหน่<br>ชาดำผสมเก๋ากี้<br>ยาปฏิชีวนะ | ก่อนปรับปรุง | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>d</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  |
|   |              | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 9.20 <sup>c</sup> ± 0.25  | 9.45 <sup>d</sup> ± 0.24  | 9.47 <sup>b</sup> ± 0.15  | 9.31 <sup>bc</sup> ± 0.24  | 8.81 <sup>b</sup> ± 0.41  | 10.02 <sup>c</sup> ± 0.18 | 9.28 <sup>b</sup> ± 0.36  |
|   |              | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 9.96 <sup>b</sup> ± 0.30  | 8.90 <sup>d</sup> ± 0.00  | 9.54 <sup>b</sup> ± 0.37  | 8.91 <sup>c</sup> ± 0.32   | 9.58 <sup>b</sup> ± 0.68  | 10.82 <sup>c</sup> ± 0.26 | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  |
|   |              | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 9.62 <sup>bc</sup> ± 0.17 | 12.28 <sup>b</sup> ± 0.19 | 11.48 <sup>a</sup> ± 0.37 | 8.92 <sup>c</sup> ± 0.16   | 9.08 <sup>b</sup> ± 0.15  | 11.93 <sup>b</sup> ± 0.31 | 9.57 <sup>b</sup> ± 0.29  |
|   |              | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 9.68 <sup>bc</sup> ± 0.25 | 11.05 <sup>c</sup> ± 0.10 | 11.49 <sup>a</sup> ± 0.34 | 9.65 <sup>b</sup> ± 0.33   | 9.89 <sup>b</sup> ± 0.58  | 11.77 <sup>b</sup> ± 0.22 | 8.96 <sup>b</sup> ± 0.27  |
|   |              | 13.02 <sup>a</sup> ± 0.47 | 13.46 <sup>a</sup> ± 0.29 | 14.15 <sup>a</sup> ± 0.10 | 12.04 <sup>a</sup> ± 0.63 | 14.18 <sup>a</sup> ± 0.12  | 15.54 <sup>a</sup> ± 0.40 | 13.68 <sup>a</sup> ± 0.47 | 12.63 <sup>a</sup> ± 0.34 |
| ชาดำที่ไม่ผ่านการหมัก<br>คอมบูชา(ชาดำ)<br>ชาดำผสมขิง<br>ชาดำผสมสะระแหน่<br>ชาดำผสมเก๋ากี้<br>ยาปฏิชีวนะ | หลังปรับปรุง | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00   | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  |
|   |              | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 8.51 <sup>b</sup> ± 0.47  | 6.36 <sup>b</sup> ± 0.18  | 8.77 <sup>b</sup> ± 0.44  | 6.34 <sup>c</sup> ± 0.17   | 7.69 <sup>b</sup> ± 0.16  | 8.59 <sup>b</sup> ± 0.30  | 8.97 <sup>b</sup> ± 0.41  |
|   |              | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.09 <sup>b</sup> ± 0.07  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 6.32 <sup>c</sup> ± 0.18   | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 8.30 <sup>b</sup> ± 0.05  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  |
|   |              | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.93 <sup>c</sup> ± 0.58  | 6.37 <sup>b</sup> ± 0.17  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 8.37 <sup>b</sup> ± 0.39   | 6.97 <sup>bc</sup> ± 0.59 | 7.87 <sup>b</sup> ± 0.15  | 7.18 <sup>c</sup> ± 0.73  |
|   |              | 6.00 <sup>b</sup> ± 0.00  | 6.35 <sup>c</sup> ± 0.35  | 6.04 <sup>b</sup> ± 0.02  | 6.00 <sup>c</sup> ± 0.00  | 8.68 <sup>b</sup> ± 0.30   | 6.62 <sup>bc</sup> ± 0.62 | 6.58 <sup>c</sup> ± 0.36  | 6.55 <sup>c</sup> ± 0.55  |
|   |              | 13.17 <sup>a</sup> ± 0.31 | 15.20 <sup>a</sup> ± 0.31 | 13.08 <sup>a</sup> ± 0.31 | 11.09 <sup>a</sup> ± 0.31 | 14.29 <sup>a</sup> ± 0.35  | 14.89 <sup>a</sup> ± 0.28 | 13.68 <sup>a</sup> ± 0.45 | 12.98 <sup>a</sup> ± 0.40 |

\*หมายเหตุ

- ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคมกก่อนและหลังปรับปรุงรสชาติแสดงในรูปค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 5 ซ้ำ
- <sup>abcd</sup> ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- การวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบในแต่ละช่วงระหว่างก่อนปรับปรุงรสชาติและหลังปรับปรุงรสชาติ



รูปที่ 4.7 ภาพการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมมบูชาแต่ละชนิดก่อนปรับปรุงรสชาติในวันที่ 20 ของการหมัก



รูปที่ 4.8 ภาพการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคอมมบูชาแต่ละชนิดหลังปรับปรุงรสชาติในวันที่ 20 ของการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการผลิตชาหมักคอมบูชาโดยใช้ชาดำผสมสมุนไพร ได้แก่ ชิง สะระแหน่ และเก๋ากี้ พบว่าการหมักคอมบูชาโดยใช้ชาดำผสมชิง ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ในอัตราส่วน 1:1 มีคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงกว่าการใช้อัตราส่วน 3:1 2:1 1:2 และ 1:3 เมื่อทำการหมักชาดำผสมสมุนไพรชนิดต่างๆ ในอัตราส่วน 1:1 และนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค พบว่าชาหมักทุกชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ โดยเฉพาะชาดำผสมสะระแหน่ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคที่นำมาทำการทดสอบสูงกว่าชาหมักคอมบูชา (ชาดำ) และชาหมักชนิดอื่นๆ และชาหมักทุกชนิดไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธีดีพีพีเอช ในชาหมักชนิดต่างๆ พบว่าชาดำผสมสะระแหน่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชาหมักชนิดอื่นๆ รวมทั้งคอมบูชา (ชาดำ) โดยวันสุดท้ายของการหมัก (20 วัน) ชาหมักคอมบูชา (ชาดำ) ชาดำผสมชิง ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ มีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชเท่ากับ  $86.26 \pm 0.24$   $87.32 \pm 0.76$   $90.39 \pm 0.23$  และ  $89.56 \pm 0.56$  ตามลำดับ จากการนำชาดำผสมสมุนไพรมาปรับปรุงรสชาติโดยการเติมน้ำส้มและน้ำสมุนไพรลงในอัตราส่วนของชาหมักต่อน้ำสมุนไพรต่อชาดำหวานที่แตกต่างกัน พบว่าชาดำผสมชิงและชาดำผสมเก๋ากี้ผู้บริโภคให้การยอมรับในอัตราส่วน 2:2:1 ในขณะที่ชาดำผสมสะระแหน่ผู้บริโภคให้การยอมรับในอัตราส่วน 2:1:1 ซึ่งเมื่อนำไปทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าหลังการปรับปรุงรสชาติฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคที่นำมาทดสอบและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่าลดลงโดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะลดลงร้อยละ 0.37 ถึง 5.81

### 5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรศึกษาพืชสมุนไพรชนิดอื่นๆ ในการผลิตชาหมักคอมบูชา เช่น ตะไคร้ ขะพลู่ ฟักแม้ว หญ้าหวาน และไพล โดยในระหว่างกระบวนการหมัก ควรเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีนด้วย เนื่องจากคาเฟอีนเป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดหนึ่งซึ่งอาจจะเป็นตัวที่ทำให้คอมบูชาที่หมักจากชาดำมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- เกวลิน รัตนจรัสกุล. 2555. “การพัฒนาฟิล์มต้านจุลินทรีย์จากคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร่วมกับน้ำมัน  
สะระแหน่ *Mentha piperita*”. งานวิจัยวิทยานิพนธ์.
- เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม. 2554. “อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและ  
กลไกการเกิดปฏิกิริยา Oxidants and antioxidants: Sources and  
mechanism”. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์ ปีที่1 ฉบับที่ 1; หน้า  
59-70.
- จิราภรณ์ บุราคร และเรือนแก้ว ประพฤติ. 2555. “ผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7  
ชนิดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย”. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์  
ทางเลือก. ปีที่10 ฉบับที่1; หน้า11-22.
- ไฉน ยอดเพชร. 2542. “พืชผักอุตสาหกรรม”. สำนักพิมพ์รั้วเขียว. กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่2.
- นเรศ วโรภาสตระกูล. 2554. Candidiasis Thai. Academic Leature. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.  
[online]. Available : [http://microbio.md.kku.ac.th/site\\_data/mykku\\_microbio/3/Lecture/CandidiasisThai.pdf](http://microbio.md.kku.ac.th/site_data/mykku_microbio/3/Lecture/CandidiasisThai.pdf).
- พานี ศิริอาด, สุรพล นธการกิจกุล, สกฤษณ์ บวรสมบัติ, ฉัตรชัย กิตติพรชัย และยิ่งมณี ตระกูลพั้ว.  
2556. “เครื่องดื่มชาหมักชีวภาพหรือคอมบูชา”. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. [online].  
Available : [http://www.madikombucha.com/academic\\_information\\_detail.php?lg=th](http://www.madikombucha.com/academic_information_detail.php?lg=th).
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์. 2552. “*Bacillus cereus*”. ศูนย์เครือข่ายอาหาร  
ข้อมูลครบวงจร. [online]. Available : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1116/bacillus-cereus>.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์. 2552. “*Listeria monocytogenes*”. ศูนย์  
เครือข่ายอาหารข้อมูลครบวงจร. [online]. Available : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2269/listeria-monocytogenes>.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์. 2552. “Pathogen (จุลินทรีย์ก่อโรค)”. ศูนย์  
เครือข่ายอาหารข้อมูลครบวงจร. [online]. Available : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0429/pathogen-จุลินทรีย์ก่อโรค>.
- วิทย์ เทียงบุญธรรม. 2554. “ชา”. หนังสือพจนานุกรมสมุนไพรไทย. ฉบับพิมพ์ครั้งที่ 5; หน้า  
262-264.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Alia, Horcajo, M., Bravo, C., Goya, L. and Luis. 2003. "Effect of grape antioxidant dietary fiber on the total antioxidant capacity and the activity of liver antioxidant enzymes in rats". *Nutrition Research*. 23; 1251-1267.
- Aleksandra, S., Dragoljub, D., Sinisa, L., Vesna, T. and Sladana, M. 2007. "Antimicrobial and antioxidant activity of lemon blam kombucha". *Original scientific paper*. 38; 165-172.
- Ahmed Aloulou. 2012. "Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats". *Journal of the International Society for Complementary Medicine Research (ISCMR)*. 10; 12-63.
- Bast, A., Haeren, G. and Doelmen, C. 1991. "Oxidants and antioxidants: state of art". *American Journal of Medicine*. 91; 2-13.
- Battikh, H., Chaieb, K., Bakhrouf, A., Ammar, E. 2011. "Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas". *Journal of Food Biochemistry*. 37(2); 231-236.
- Battikh, H., Chaieb, K., Bakhrouf, A., Ammar, E. 2012. "Antimicrobial effect of Kombucha analogues". *Food Science and Technology*. 47; 71-77.
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D. and Gachhui, R. 2016. "Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics". *International Journal of Food Microbiology*. 220; 63-72.
- Chattopadhyay, K. and Chattopadhyay, B.D. 2008. "Effect of nicotine on lipid profile, peroxidation & antioxidant enzymes in female rats with restricted dietary protein". *Journal of research and education in indian medicine*. 127; 571-576.
- Chen, C. and Liu, B.Y. 2000. "Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation". *Journal of Applied Microbiology*. 89; 834-839.
- Cornish, M. L. and Garbary, D.J. 2010. "Antioxidant from microalgae: potential application in human health and nutrition". *Free Radical Biology & Medicine*. 25; 155-171.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Dufresne, C. and Farnworth, E. 2000. "Tea, Kombucha, and health a review". *Food Research International*. 33; 409-421.
- Frankel, E.N., Bosanek, C.A., Meyer, A.S., Silliman, K. and Kirk, L.L. 1998. "Commercial grape juices inhibit the in vitro oxidation of human low- density lipoproteins". *Journal of the American Oil Chemists Society*. 46; 834-838.
- Geoffrey, V., Stagg, J., David, J. and Millin. 1975. "The nutritional and therapeutic value of tea". *Journal science of food and agriculture*. pp.1439-1459.
- Greenwalt, C.J., Dufersne and Farnworth. 2000. เครื่องดื่มชาหมักคอมบูชา. [online]. Available : <http://happyherbalift.com/kombu/FAQ>.
- Greenwalt, C., Steinkraus, K. and Ledford, R. 2000. "Kombucha the fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects". *Journal of Food Protection*. 63(7); 976-981.
- Halliwell, B. 2009. "The wanderings of a free radical". *Free Radical Biology and Medicine*. 46; 531-542.
- Iris, M. 2004. "The Empire of Tea". *Books Politics & Social Sciences Social Sciences*. pp.390.
- Jane, V., Frei, H. and Frei, B. 2010. "Tea Catechins and Polyphenols: Health Effects, Metabolism, and Antioxidant Functions". *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 43(1); 89-143.
- Hou, W.C., Lee, M.H., Chen, H.J., Liang, W.L., Han, C.H., Liu, Y.W., and Lin, Y.H., 2001. "Antioxidant activities of dioscorin, the storage protein of yam (*Dioscorea batatas* Deche) tuber". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49; 4956-4960.
- Lai, A.K. 2007. "Colour in relation to total antioxidant capacity of beers assessed using the FRAP assay". *Alcohol and Alcoholism*. 42(1); 55-57.
- Liu, CH., Hsu W.H., Lee, F.L. and Liao, C.C. 1996. "The isolation and identification of microbes from a fermented beverage, Haipao and their interactions during Haipao fermentation". *Journal of Food Microbial IJRRAS*. 6; 407-415.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Malbasa, R., Vitas, J., Loncar, E. and Milanovic, S. 2012. "Physical and textural characteristics of fermented milk products obtained by kombucha inoculums with herbal teas". *Original scientific paper*. 43; 51-59.
- Nakabeppu, Y., Sakumi, K., Sakamoto, K., Tsuchimoto, D., Tsuzuki, T. and Nakatsu, Y. 2006. "Mutagenesis and carcinogenesis caused by the oxidation of nucleic acids". *Journal of Biological Chemistry*. 387; 373-382.
- Ohkawa, H., Ohishil, N., Yagi, K. 1979. "Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction". *Anal Biochem*. 95; 351-358.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M. 2001. *Antioxidants in food: practical applications*. New York: CRC Press. pp.380.
- Puerta, T. 1999. "Inhibition of leukocytes lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 57; 445-449.
- Pure, A.E. and Pure, M.E. 2016. "Antioxidant and antibacterial activity of kombucha beverages prepared using banana peel common nettles and black tea infusions". *Journal of Applied Food Biotechnology*. 3 (2); 125-130.
- Que, F., Mao, L.C. and Zheng, X.J. 2007. "In vitro and vivo antioxidant activities of daylily flowers and the involvement of phenolic compounds". *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 16; 196-203.
- Ramamoorthy, P.K. and Bono, A. 2007. "Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of Morinda Citrifolia fruit extracts from various extraction processes". *Journal of Engineering Science & Technology*. 2; 70-80.
- Sanchez, C., Moreno, C., Jimenez, A., Escria, A., Saura, J. and Calixto, J. 2000. "Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols" *Nutrition Research*. 20; 941-953.
- Scott, D.A., Poston, R.N., Wilson, R.F., Coward, P.Y. and Palmer, R.M. 2005. "The influence of vitamin C on systemic markers of endothelial and inflammatory cell activation in smokers and non-smokers". *Journal of Inflammation Research*. 54; 138-144.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Sies, H., Stahl, W. and Sundquist, A. 1992. "Antioxidant functions of vitamins, vitamin E and C, beta-carotene and other carotenoids". *Annals of the New York Academy of sciences*. 368; 7-19.
- Sreeramulu, G., Zhu, Y., and Knol, W. 2000. "Kombucha fermentation and its antimicrobial activity". Department of Applied Microbiology and Gene Technology, TNO. Nutrition and Food Research Institute. 48; 2589-2594.
- Sun, T., Li, J. and Chen, C. 2015. "Effects of blending wheatgrass juice on enhancing phenolic compounds and antioxidant activities of traditional kombucha beverage". *Journal of food and drug analysis*. 23; 709-718.
- Valacchi, G., Pagnin, E., Corbacho, A.M. and Olano, E. 2004. "In vivo ozone exposure induces antioxidant stress-related responses in murine lung and skin". *Free Radical Biology and Medicine*, 36; 673-681.
- Vichitphan, S., Vichitphan, K. and Sirikhansaeng, P. 2007. "Flavonoid content and antioxidant activity of Krachai-dum (*Kaempferia parviflora*) wine". *KMITL Science and Technology*. 7; 97-105.
- Yang, Y., Nam, S.J., Kong, G. and Kim, M.K. 2010. "A case-control study on seaweed consumption and the risk of breast cancer". *British Journal of Nutrition*. 103; 1345-1353.
- Sun, T.Y., Li, J., Li, S. and Chen, C. 2015. "Effects of blending wheatgrass juice on enhancing phenolic compounds and antioxidant activities of traditional kombucha beverage". *Journal of food and drug analysis*. 23; 709-718.
- Zhang, G.W., Ma, X.Q., Su, J.Y. and Zhang, K. 2006. "Two new bioactive sesquiterpenes from the soft coral *Sinularia sp*". *Journal of Natural Products*. 20; 659-664 .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### การเตรียมสารเคมี

#### 1. โซเดียมไฮดรอกไซด์

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร NaOH มีมวลโมเลกุล 40 กรัมต่อโมล

$$\text{คำนวณโดยใช้สูตร } \frac{g}{MW} = \frac{CV}{1,000}$$

เมื่อ g คือ น้ำหนักของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ต้องการ

MW คือ มวลโมเลกุลของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (40 กรัมต่อโมล)

C คือ ความเข้มข้น (0.1 โมลาร์)

V คือ ปริมาตร หน่วยเป็น มิลลิลิตร

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ปริมาณ NaOH ที่ต้องชั่ง (กรัม)} &= \frac{0.1 \times 1,000 \times 40}{1,000} \\ &= 6 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

ดังนั้นสามารถเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ได้โดยการชั่ง NaOH มา 6 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

#### 2. สารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

เตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 60 มิลลิลิตร สารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) มีมวลโมเลกุล 394.32 กรัมต่อโมล

$$\text{คำนวณโดยใช้สูตร } \frac{g}{MW} = \frac{CV}{1,000}$$

เมื่อ g คือ น้ำหนักของสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ที่ต้องการ

MW คือ มวลโมเลกุลของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)  
(394.32 กรัมต่อโมล)

C คือ ความเข้มข้น (0.2 มิลลิโมลาร์)

V คือ ปริมาตร หน่วยเป็น มิลลิลิตร

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น ปริมาณ DPPH ที่ต้องชั่ง (มิลลิกรัม)} &= \frac{0.2 \times 60 \times 394.32}{1,000} \\ &= 4.7 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นสามารถเตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ได้โดยการชั่งสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) มา 4.7 มิลลิกรัม ละลายในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร คนจนสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ละลายหมด

### 3. ฟีนอล์ฟทาลีน

ใช้ฟีนอล์ฟทาลีน 1 กรัม ละลายในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร คนจนฟีนอล์ฟทาลีนละลายหมด จากนั้นจึงปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

### 4. โซเดียมคลอไรด์

เตรียมสารละลายคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ได้โดยการชั่ง NaOH มา 0.9 กรัม ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

### 5. สารละลาย ยาปฏิชีวนะ Vancomycin, Gentamycin และ Ketoconazole

- เตรียมสารละลายยาปฏิชีวนะ Vancomycin ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 4 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลายยาปฏิชีวนะ Gentamycin ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 4 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลายยาปฏิชีวนะ Ketoconazole ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 4 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

### การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

#### 1. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ Mueller Hinton Agar (MHA)

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ ใส่วุ้น (Agar) ร้อยละ 1.7 ละลายให้เข้ากัน และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งอัตโนมัติ

#### 2. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ Mueller Hinton Broth (MHB)

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ ไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งอัตโนมัติ

#### 3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

สูตรอาหาร Sabouraud Dextrose Agar (SDA) ประกอบด้วย

|                        |    |             |
|------------------------|----|-------------|
| - เดกซ์โทรส (Dextrose) | 40 | กรัมต่อลิตร |
| - เปปโตน (Peptone)     | 10 | กรัมต่อลิตร |
| - วุ้น (Agar)          | 17 | กรัมต่อลิตร |

เตรียมส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น ปรับให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud Dextrose Agar (SDA) ไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งอัตโนมัติ

#### 4. อาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud Dextrose Broth (SDB)

สูตรอาหาร Sabouraud Dextrose Broth (SDB) ประกอบด้วย

|                        |    |             |
|------------------------|----|-------------|
| - เดกซ์โทรส (Dextrose) | 40 | กรัมต่อลิตร |
| - เปปโตน (Peptone)     | 10 | กรัมต่อลิตร |

เตรียมส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น ปรับให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud Dextrose Broth (SDB) ไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งอัตโนมัติ

#### 5. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ Nutrient Agar (NA)

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ ใส่วุ้น (Agar) ร้อยละ 1.7 ละลายให้เข้ากัน และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งอัตโนมัติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ Nutrient Broth (NB)

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ ไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ

7. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ Potato Dextrose Agar (PDA)

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ ใส่วุ้น (Agar) ร้อยละ 1.7 ละลายให้เข้ากัน และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ

8. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ Potato Dextrose Broth (PDB)

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ ไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค

## ข้อมูลดิบผลการทดสอบชิม

ตัวอย่าง

แบบประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัส  
ผลิตภัณฑ์ชาหมักคอมบูชาที่หมักร่วมกับสมุนไพรไทย

ชื่อ-นามสกุล ..... วันที่..... ชุด  
ที่ 1

คำแนะนำ : กรุณาทดสอบตัวอย่างตามลำดับที่นำเสนอ แล้วให้คะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดให้

1 = ไม่ชอบมากที่สุด      2 = ไม่ชอบมาก      3 = ไม่ชอบปาน

กลาง

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย      5 = เฉยๆ      6 = ชอบเล็กน้อย

7 = ชอบปานกลาง      8 = ชอบมาก      9 = ชอบมากที่สุด

\*\*\* กรุณาบ้วนปากก่อนเริ่มตัวอย่างทุกครั้ง

| ตัวอย่างชาหมัก หมัก<br>เป็นเวลา 10 วัน | ความใส | สี | ความเปรี้ยว | ความหวาน | ความกลม<br>กลม | ความชอบ<br>โดยรวม |
|--|--------|----|-------------|----------|----------------|-------------------|
| (c)                                    |        |    |             |          |                |                   |
| (ก1)                                   |        |    |             |          |                |                   |
| (ก2)                                   |        |    |             |          |                |                   |
| (ก3)                                   |        |    |             |          |                |                   |
| (ก4)                                   |        |    |             |          |                |                   |
| (ก5)                                   |        |    |             |          |                |                   |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-1 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำผสมขิง โดยใช้อัตราส่วนของชาดำต่อขิงในอัตราส่วนต่างๆ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

| ชาดำผสมขิง |    |    |    |    |    |   |    |    |    |             |    |   |    |    |          |    |    |   |    |              |    |    |    |   |               |    |    |    |    |   |    |    |    |    |    |
|------------|----|----|----|----|----|---|----|----|----|-------------|----|---|----|----|----------|----|----|---|----|--------------|----|----|----|---|---------------|----|----|----|----|---|----|----|----|----|----|
| ความใส     |    |    |    |    | สี |   |    |    |    | ความเปรี้ยว |    |   |    |    | ความหวาน |    |    |   |    | ความกลมกล่อม |    |    |    |   | ความชอบโดยรวม |    |    |    |    |   |    |    |    |    |    |
| c          | ข1 | ข2 | ข3 | ข4 | ข5 | c | ข1 | ข2 | ข3 | ข4          | ข5 | c | ข1 | ข2 | ข3       | ข4 | ข5 | c | ข1 | ข2           | ข3 | ข4 | ข5 | c | ข1            | ข2 | ข3 | ข4 | ข5 | c | ข1 | ข2 | ข3 | ข4 | ข5 |
| 5          | 5  | 7  | 7  | 7  | 7  | 5 | 5  | 7  | 7  | 7           | 7  | 5 | 7  | 2  | 6        | 1  | 1  | 5 | 7  | 2            | 6  | 1  | 1  | 5 | 7             | 2  | 6  | 1  | 1  | 5 | 7  | 2  | 6  | 1  | 1  |
| 6          | 4  | 5  | 8  | 8  | 8  | 7 | 7  | 5  | 6  | 8           | 8  | 8 | 4  | 4  | 5        | 3  | 5  | 8 | 4  | 5            | 6  | 5  | 6  | 9 | 4             | 4  | 5  | 5  | 6  | 9 | 5  | 5  | 5  | 5  | 6  |
| 2          | 2  | 5  | 5  | 5  | 8  | 8 | 5  | 2  | 2  | 2           | 8  | 1 | 1  | 1  | 1        | 1  | 2  | 6 | 6  | 1            | 1  | 1  | 2  | 4 | 4             | 1  | 1  | 1  | 2  | 5 | 5  | 2  | 2  | 2  | 4  |
| 7          | 5  | 8  | 7  | 7  | 8  | 7 | 5  | 8  | 7  | 7           | 8  | 5 | 5  | 4  | 5        | 7  | 7  | 8 | 7  | 6            | 5  | 6  | 6  | 7 | 7             | 6  | 6  | 6  | 7  | 8 | 7  | 6  | 6  | 6  | 7  |
| 8          | 4  | 7  | 2  | 7  | 7  | 5 | 4  | 6  | 2  | 3           | 7  | 6 | 5  | 1  | 4        | 1  | 1  | 6 | 3  | 1            | 5  | 1  | 1  | 9 | 3             | 1  | 1  | 1  | 1  | 6 | 4  | 1  | 1  | 1  | 1  |
| 7          | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  | 7 | 7  | 7  | 7  | 7           | 7  | 7 | 7  | 4  | 6        | 6  | 6  | 6 | 8  | 7            | 7  | 7  | 7  | 8 | 7             | 7  | 7  | 7  | 8  | 7 | 8  | 7  | 7  | 7  | 7  |
| 3          | 8  | 7  | 8  | 8  | 7  | 5 | 7  | 7  | 8  | 8           | 7  | 6 | 8  | 4  | 6        | 3  | 4  | 1 | 8  | 7            | 6  | 3  | 9  | 3 | 8             | 5  | 5  | 6  | 9  | 3 | 9  | 4  | 4  | 7  | 9  |
| 7          | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  | 5 | 5  | 5  | 5  | 5           | 5  | 6 | 6  | 6  | 6        | 6  | 6  | 7 | 7  | 7            | 7  | 7  | 9  | 9 | 9             | 9  | 8  | 8  | 7  | 7 | 7  | 7  | 8  | 8  |    |
| 8          | 8  | 9  | 9  | 8  | 9  | 8 | 8  | 8  | 8  | 8           | 9  | 7 | 8  | 8  | 8        | 8  | 8  | 8 | 8  | 8            | 9  | 8  | 7  | 8 | 8             | 9  | 9  | 8  | 8  | 8 | 8  | 9  | 8  | 8  | 8  |
| 4          | 4  | 4  | 4  | 4  | 4  | 7 | 7  | 7  | 7  | 7           | 7  | 7 | 2  | 6  | 6        | 7  | 2  | 6 | 4  | 7            | 7  | 7  | 3  | 6 | 4             | 7  | 7  | 7  | 3  | 7 | 5  | 7  | 8  | 8  | 6  |
| 6          | 6  | 6  | 6  | 7  | 6  | 6 | 5  | 5  | 6  | 6           | 6  | 6 | 7  | 5  | 6        | 7  | 6  | 6 | 6  | 6            | 6  | 7  | 6  | 6 | 3             | 3  | 3  | 7  | 6  | 6 | 5  | 6  | 6  | 7  | 6  |
| 3          | 4  | 7  | 4  | 6  | 4  | 6 | 8  | 7  | 6  | 1           | 7  | 4 | 1  | 6  | 3        | 8  | 5  | 2 | 1  | 7            | 5  | 8  | 7  | 3 | 1             | 5  | 7  | 6  | 8  | 4 | 1  | 6  | 6  | 9  | 9  |
| 8          | 7  | 7  | 6  | 8  | 4  | 7 | 8  | 7  | 5  | 9           | 5  | 6 | 2  | 4  | 6        | 7  | 8  | 3 | 2  | 4            | 5  | 4  | 8  | 3 | 2             | 4  | 5  | 4  | 8  | 7 | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  |
| 5          | 5  | 7  | 7  | 7  | 7  | 7 | 6  | 7  | 7  | 7           | 7  | 8 | 7  | 5  | 4        | 3  | 3  | 8 | 7  | 5            | 4  | 4  | 3  | 8 | 7             | 5  | 4  | 5  | 4  | 8 | 7  | 5  | 4  | 5  | 5  |
| 5          | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5 | 5  | 5  | 5  | 5           | 5  | 7 | 4  | 4  | 6        | 7  | 4  | 7 | 4  | 4            | 6  | 8  | 4  | 6 | 4             | 6  | 6  | 7  | 4  | 6 | 4  | 6  | 6  | 7  | 4  |
| 5          | 5  | 5  | 7  | 7  | 8  | 5 | 5  | 5  | 7  | 7           | 8  | 2 | 2  | 7  | 6        | 6  | 8  | 2 | 7  | 7            | 7  | 8  | 8  | 2 | 3             | 7  | 8  | 8  | 8  | 2 | 3  | 7  | 8  | 8  | 9  |
| 7          | 6  | 7  | 7  | 7  | 7  | 7 | 7  | 7  | 7  | 7           | 7  | 7 | 4  | 6  | 8        | 8  | 4  | 7 | 6  | 6            | 7  | 8  | 4  | 7 | 6             | 7  | 7  | 8  | 4  | 7 | 6  | 6  | 8  | 8  | 4  |
| 7          | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  | 7 | 7  | 7  | 7  | 7           | 7  | 8 | 8  | 8  | 8        | 8  | 8  | 4 | 8  | 8            | 7  | 8  | 7  | 7 | 7             | 7  | 8  | 8  | 8  | 7 | 9  | 8  | 9  | 9  | 9  |
| 7          | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  | 9 | 9  | 9  | 9  | 9           | 9  | 7 | 8  | 7  | 8        | 8  | 9  | 8 | 4  | 4            | 4  | 4  | 4  | 8 | 2             | 3  | 4  | 8  | 8  | 9 | 4  | 8  | 8  | 8  | 9  |
| 7          | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  | 7 | 7  | 7  | 7  | 7           | 7  | 5 | 4  | 8  | 7        | 8  | 6  | 5 | 5  | 8            | 6  | 8  | 6  | 5 | 5             | 8  | 6  | 7  | 6  | 5 | 5  | 8  | 6  | 7  | 6  |

ตารางที่ ค-1 (ต่อ) ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำผสมชিংโดยใช้อัตราส่วนของชาดำต่อชিংในอัตราส่วนต่างๆ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

| ชาดำผสมชিং |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |             |   |    |    |    |          |    |   |    |    |              |    |    |   |    |               |    |    |    |   |    |    |    |    |    |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-------------|---|----|----|----|----------|----|---|----|----|--------------|----|----|---|----|---------------|----|----|----|---|----|----|----|----|----|
| ความใส     |    |    |    |    |    | สี |    |    |    |    | ความเปรี้ยว |   |    |    |    | ความหวาน |    |   |    |    | ความกลมกล่อม |    |    |   |    | ความชอบโดยรวม |    |    |    |   |    |    |    |    |    |
| c          | ข1 | ข2 | ข3 | ข4 | ข5 | c  | ข1 | ข2 | ข3 | ข4 | ข5          | c | ข1 | ข2 | ข3 | ข4       | ข5 | c | ข1 | ข2 | ข3           | ข4 | ข5 | c | ข1 | ข2            | ข3 | ข4 | ข5 | c | ข1 | ข2 | ข3 | ข4 | ข5 |
| 7          | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  | 7           | 5 | 5  | 5  | 4  | 5        | 6  | 5 | 5  | 5  | 4            | 5  | 5  | 6 | 3  | 5             | 4  | 5  | 5  | 6 | 4  | 5  | 5  | 5  | 5  |
| 5          | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 7  | 7  | 6  | 7           | 7 | 2  | 7  | 7  | 6        | 6  | 6 | 2  | 4  | 7            | 6  | 3  | 7 | 2  | 4             | 6  | 5  | 5  | 7 | 2  | 4  | 6  | 5  | 5  |
| 7          | 8  | 4  | 7  | 7  | 7  | 7  | 8  | 4  | 7  | 7  | 7           | 6 | 6  | 7  | 8  | 7        | 5  | 6 | 2  | 4  | 7            | 6  | 3  | 7 | 2  | 4             | 6  | 5  | 5  | 7 | 2  | 5  | 7  | 6  | 5  |
| 6          | 6  | 6  | 6  | 6  | 6  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5           | 6 | 4  | 5  | 4  | 3        | 4  | 6 | 4  | 7  | 8            | 8  | 5  | 7 | 4  | 7             | 7  | 6  | 6  | 7 | 5  | 8  | 8  | 7  | 6  |
| 7          | 6  | 7  | 8  | 7  | 4  | 8  | 7  | 7  | 8  | 7  | 5           | 7 | 2  | 3  | 6  | 4        | 4  | 6 | 4  | 5  | 4            | 3  | 5  | 5 | 3  | 4             | 4  | 3  | 3  | 7 | 3  | 4  | 4  | 4  | 4  |

\*หมายเหตุ

- C คือ คอมบูชา (ชาดำ) อัตราส่วน ชาดำ : ชিং (1:0) ตัวควบคุม
- ข1 คือ ชาดำผสมชিং อัตราส่วน ชาดำ : ชিং (3:1)
- ข2 คือ ชาดำผสมชিং อัตราส่วน ชาดำ : ชিং (2:1)
- ข3 คือ ชาดำผสมชিং อัตราส่วน ชาดำ : ชিং (1:1)
- ข4 คือ ชาดำผสมชিং อัตราส่วน ชาดำ : ชিং (1:2)
- ข5 คือ ชาดำผสมชিং อัตราส่วน ชาดำ : ชিং (1:3)

ตารางที่ ค-2 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำสมสรรแห่ โดยใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสรรแห่ในอัตราส่วนต่างๆ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

| ชาดำสมสรรแห่ |    |    |    |    |    |   |    |    |    |             |    |   |    |    |          |    |    |   |    |              |    |    |    |   |               |    |    |    |    |   |    |    |    |    |    |   |
|--------------|----|----|----|----|----|---|----|----|----|-------------|----|---|----|----|----------|----|----|---|----|--------------|----|----|----|---|---------------|----|----|----|----|---|----|----|----|----|----|---|
| ความใส       |    |    |    |    | สี |   |    |    |    | ความเปรี้ยว |    |   |    |    | ความหวาน |    |    |   |    | ความกลมกล่อม |    |    |    |   | ความชอบโดยรวม |    |    |    |    |   |    |    |    |    |    |   |
| c            | ส1 | ส2 | ส3 | ส4 | ส5 | c | ส1 | ส2 | ส3 | ส4          | ส5 | c | ส1 | ส2 | ส3       | ส4 | ส5 | c | ข1 | ส2           | ส3 | ส4 | ส5 | c | ส1            | ส2 | ส3 | ส4 | ส5 | c | ส1 | ส2 | ส3 | ส4 | ส5 |   |
| 8            | 2  | 7  | 7  | 7  | 7  | 9 | 2  | 7  | 7  | 7           | 7  | 5 | 3  | 3  | 5        | 3  | 2  | 3 | 5  | 3            | 5  | 5  | 2  | 7 | 2             | 5  | 6  | 5  | 5  | 7 | 2  | 5  | 6  | 5  | 4  |   |
| 7            | 6  | 5  | 5  | 6  | 6  | 7 | 6  | 6  | 6  | 6           | 6  | 7 | 5  | 4  | 7        | 3  | 6  | 7 | 4  | 4            | 7  | 3  | 7  | 7 | 4             | 4  | 6  | 3  | 6  | 7 | 5  | 4  | 6  | 4  | 5  |   |
| 5            | 4  | 5  | 6  | 5  | 5  | 7 | 3  | 6  | 7  | 6           | 5  | 7 | 6  | 8  | 9        | 4  | 8  | 6 | 8  | 8            | 8  | 4  | 8  | 7 | 8             | 8  | 8  | 4  | 8  | 7 | 7  | 8  | 9  | 5  | 9  |   |
| 7            | 6  | 3  | 8  | 5  | 4  | 7 | 6  | 3  | 8  | 5           | 4  | 7 | 5  | 3  | 8        | 5  | 4  | 7 | 6  | 3            | 8  | 5  | 4  | 7 | 6             | 3  | 8  | 5  | 4  | 7 | 6  | 3  | 8  | 5  | 4  |   |
| 5            | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 8 | 8  | 8  | 8  | 8           | 8  | 8 | 8  | 7  | 8        | 8  | 7  | 6 | 9  | 7            | 7  | 8  | 6  | 6 | 9             | 7  | 8  | 8  | 6  | 7 | 8  | 6  | 8  | 8  | 6  | 7 |
| 7            | 7  | 8  | 8  | 8  | 9  | 7 | 7  | 8  | 8  | 8           | 8  | 5 | 4  | 7  | 7        | 7  | 5  | 7 | 6  | 7            | 7  | 5  | 7  | 7 | 5             | 7  | 8  | 5  | 8  | 7 | 5  | 6  | 8  | 6  | 8  |   |
| 7            | 8  | 8  | 9  | 8  | 9  | 7 | 8  | 8  | 9  | 8           | 8  | 6 | 7  | 8  | 8        | 6  | 4  | 6 | 7  | 7            | 8  | 6  | 4  | 6 | 7             | 7  | 8  | 4  | 4  | 6 | 7  | 7  | 9  | 4  | 4  |   |
| 7            | 6  | 7  | 7  | 6  | 6  | 7 | 6  | 6  | 6  | 6           | 6  | 7 | 6  | 6  | 7        | 7  | 7  | 8 | 8  | 8            | 8  | 8  | 8  | 7 | 7             | 7  | 7  | 7  | 7  | 7 | 8  | 7  | 8  | 7  | 7  |   |
| 5            | 4  | 4  | 5  | 4  | 5  | 6 | 6  | 6  | 6  | 6           | 6  | 6 | 2  | 5  | 4        | 2  | 5  | 4 | 5  | 5            | 2  | 2  | 4  | 3 | 2             | 2  | 5  | 2  | 6  | 6 | 2  | 4  | 5  | 2  | 6  |   |
| 7            | 4  | 6  | 7  | 7  | 7  | 7 | 7  | 7  | 7  | 7           | 8  | 8 | 8  | 7  | 8        | 4  | 8  | 6 | 7  | 6            | 7  | 5  | 8  | 7 | 8             | 7  | 8  | 6  | 8  | 7 | 8  | 7  | 8  | 6  | 9  |   |
| 4            | 5  | 5  | 6  | 6  | 6  | 5 | 5  | 6  | 6  | 7           | 7  | 5 | 6  | 5  | 7        | 8  | 8  | 5 | 6  | 4            | 6  | 7  | 6  | 6 | 6             | 5  | 6  | 8  | 7  | 6 | 6  | 5  | 7  | 8  | 7  |   |
| 4            | 2  | 3  | 3  | 6  | 4  | 3 | 2  | 3  | 3  | 4           | 7  | 3 | 2  | 7  | 5        | 4  | 7  | 2 | 2  | 7            | 3  | 4  | 6  | 2 | 2             | 7  | 5  | 2  | 7  | 2 | 2  | 7  | 5  | 2  | 7  |   |
| 5            | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5 | 5  | 5  | 5  | 5           | 5  | 3 | 3  | 3  | 7        | 7  | 8  | 7 | 6  | 6            | 6  | 7  | 7  | 7 | 6             | 6  | 6  | 9  | 7  | 7 | 7  | 7  | 7  | 9  | 9  |   |
| 7            | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  | 8 | 5  | 5  | 5  | 5           | 5  | 5 | 4  | 7  | 4        | 7  | 4  | 7 | 5  | 7            | 4  | 7  | 4  | 7 | 5             | 7  | 4  | 7  | 4  | 8 | 6  | 7  | 4  | 7  | 4  |   |
| 6            | 6  | 6  | 6  | 7  | 6  | 7 | 7  | 7  | 7  | 7           | 8  | 6 | 3  | 4  | 6        | 7  | 3  | 8 | 3  | 5            | 6  | 7  | 3  | 7 | 4             | 5  | 6  | 7  | 3  | 7 | 4  | 5  | 6  | 7  | 4  |   |
| 7            | 7  | 7  | 7  | 7  | 6  | 7 | 7  | 7  | 7  | 8           | 6  | 6 | 3  | 4  | 6        | 8  | 4  | 6 | 2  | 3            | 6  | 7  | 4  | 6 | 3             | 3  | 6  | 8  | 4  | 6 | 3  | 3  | 6  | 8  | 4  |   |
| 4            | 6  | 6  | 5  | 6  | 3  | 6 | 6  | 5  | 6  | 6           | 3  | 7 | 8  | 7  | 8        | 8  | 4  | 6 | 3  | 6            | 2  | 7  | 3  | 7 | 5             | 6  | 8  | 9  | 2  | 6 | 5  | 6  | 7  | 9  | 4  |   |
| 5            | 5  | 5  | 8  | 9  | 7  | 5 | 5  | 5  | 8  | 9           | 7  | 7 | 5  | 5  | 4        | 6  | 7  | 8 | 5  | 5            | 6  | 6  | 4  | 8 | 4             | 5  | 5  | 6  | 5  | 9 | 5  | 5  | 5  | 7  | 5  |   |
| 5            | 4  | 6  | 8  | 6  | 7  | 6 | 5  | 7  | 9  | 7           | 8  | 8 | 7  | 6  | 7        | 6  | 8  | 8 | 7  | 6            | 5  | 6  | 4  | 8 | 6             | 7  | 7  | 6  | 5  | 9 | 5  | 6  | 7  | 8  | 8  |   |
| 7            | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  | 8 | 8  | 8  | 8  | 7           | 5  | 8 | 7  | 5  | 5        | 7  | 7  | 6 | 6  | 5            | 5  | 5  | 7  | 8 | 8             | 6  | 7  | 5  | 5  | 8 | 8  | 6  | 6  | 8  | 8  |   |

ตารางที่ ค-2 (ต่อ) ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำผสมสระแห้ง โดยใช้อัตราส่วนของชาดำต่อขิงในอัตราส่วนต่างๆ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

| ชาดำผสมสระแห้ง |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |             |    |    |    |    |    |          |    |    |    |    |    |              |    |    |    |    |    |               |    |    |    |    |    |
|----------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-------------|----|----|----|----|----|----------|----|----|----|----|----|--------------|----|----|----|----|----|---------------|----|----|----|----|----|
| ความใส         |    |    |    |    |    | สี |    |    |    |    |    | ความเปรี้ยว |    |    |    |    |    | ความหวาน |    |    |    |    |    | ความกลมกล่อม |    |    |    |    |    | ความชอบโดยรวม |    |    |    |    |    |
| c              | ส1 | ส2 | ส3 | ส4 | ส5 | c  | ส1 | ส2 | ส3 | ส4 | ส5 | c           | ส1 | ส2 | ส3 | ส4 | ส5 | c        | ส1 | ส2 | ส3 | ส4 | ส5 | c            | ส1 | ส2 | ส3 | ส4 | ส5 | c             | ส1 | ส2 | ส3 | ส4 | ส5 |
| 7              | 7  | 2  | 3  | 7  | 7  | 5  | 5  | 5  | 5  | 8  | 5  | 1           | 1  | 3  | 3  | 1  | 3  | 9        | 3  | 3  | 3  | 3  | 8  | 9            | 1  | 3  | 3  | 7  | 7  | 9             | 7  | 7  | 7  | 7  | 1  |
| 6              | 4  | 6  | 9  | 9  | 8  | 6  | 5  | 5  | 8  | 9  | 8  | 6           | 7  | 7  | 9  | 9  | 8  | 3        | 3  | 7  | 4  | 4  | 4  | 4            | 2  | 6  | 6  | 7  | 7  | 7             | 7  | 7  | 8  | 8  | 7  |
| 7              | 7  | 7  | 8  | 8  | 8  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 6           | 3  | 3  | 3  | 2  | 4  | 5        | 3  | 3  | 2  | 3  | 3  | 6            | 5  | 4  | 3  | 1  | 4  | 6             | 4  | 4  | 3  | 3  | 4  |
| 9              | 9  | 9  | 8  | 9  | 9  | 9  | 9  | 9  | 8  | 9  | 9  | 7           | 8  | 9  | 9  | 9  | 9  | 8        | 8  | 9  | 9  | 8  | 9  | 9            | 9  | 9  | 9  | 9  | 9  | 8             | 8  | 9  | 9  | 9  | 9  |
| 5              | 6  | 6  | 7  | 7  | 7  | 6  | 6  | 6  | 7  | 7  | 7  | 6           | 4  | 7  | 7  | 7  | 8  | 6        | 7  | 6  | 7  | 6  | 8  | 7            | 5  | 7  | 8  | 7  | 7  | 6             | 5  | 7  | 7  | 7  | 8  |

\*หมายเหตุ

- C คือ คอมบูชา (ชาดำ) อัตราส่วน ชาดำ : สระแห้ง (1:0) ตัวควบคุม
- ส1 คือ ชาดำผสมสระแห้ง อัตราส่วน ชาดำ : สระแห้ง (3:1)
- ส2 คือ ชาดำผสมสระแห้ง อัตราส่วน ชาดำ : สระแห้ง (2:1)
- ส3 คือ ชาดำผสมสระแห้ง อัตราส่วน ชาดำ : สระแห้ง (1:1)
- ส4 คือ ชาดำผสมสระแห้ง อัตราส่วน ชาดำ : สระแห้ง (1:2)
- ส5 คือ ชาดำผสมสระแห้ง อัตราส่วน ชาดำ : สระแห้ง (1:3)

ตารางที่ ค-3 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำผสมเก๋ากี้ โดยใช้อัตราส่วนของชาดำต่อเก๋ากี้ในอัตราส่วนต่างๆ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

| ชาดำผสมเก๋ากี้ |    |    |    |    |    |   |    |    |    |             |    |   |    |    |          |    |    |   |    |              |    |    |    |   |               |    |    |    |    |   |    |    |    |    |    |
|----------------|----|----|----|----|----|---|----|----|----|-------------|----|---|----|----|----------|----|----|---|----|--------------|----|----|----|---|---------------|----|----|----|----|---|----|----|----|----|----|
| ความใส         |    |    |    |    | สี |   |    |    |    | ความเปรี้ยว |    |   |    |    | ความหวาน |    |    |   |    | ความกลมกล่อม |    |    |    |   | ความชอบโดยรวม |    |    |    |    |   |    |    |    |    |    |
| c              | n1 | n2 | n3 | n4 | n5 | c | n1 | n2 | n3 | n4          | n5 | c | n1 | n2 | n3       | n4 | n5 | c | n1 | n2           | n3 | n4 | n5 | c | n1            | n2 | n3 | n4 | n5 | c | n1 | n2 | n3 | n4 | n5 |
| 2              | 2  | 2  | 7  | 7  | 7  | 3 | 3  | 3  | 7  | 8           | 7  | 2 | 2  | 7  | 7        | 8  | 8  | 2 | 2  | 2            | 7  | 7  | 7  | 2 | 2             | 6  | 6  | 6  | 7  | 2 | 2  | 6  | 6  | 7  | 8  |
| 5              | 9  | 7  | 7  | 7  | 7  | 7 | 9  | 5  | 5  | 7           | 5  | 5 | 6  | 7  | 6        | 7  | 8  | 7 | 8  | 5            | 7  | 6  | 5  | 7 | 8             | 7  | 8  | 5  | 8  | 7 | 9  | 8  | 7  | 7  | 7  |
| 4              | 4  | 4  | 4  | 8  | 8  | 4 | 3  | 3  | 4  | 7           | 4  | 7 | 2  | 6  | 8        | 3  | 4  | 3 | 3  | 7            | 8  | 2  | 3  | 3 | 2             | 6  | 8  | 2  | 3  | 3 | 2  | 7  | 8  | 2  | 4  |
| 3              | 3  | 6  | 6  | 6  | 6  | 3 | 3  | 3  | 3  | 3           | 3  | 6 | 6  | 6  | 6        | 6  | 6  | 6 | 6  | 6            | 6  | 6  | 6  | 6 | 6             | 6  | 6  | 6  | 6  | 6 | 7  | 8  | 8  | 8  | 8  |
| 7              | 8  | 7  | 8  | 7  | 7  | 8 | 8  | 7  | 8  | 7           | 7  | 5 | 8  | 7  | 8        | 7  | 7  | 7 | 8  | 7            | 8  | 7  | 7  | 7 | 8             | 7  | 8  | 7  | 7  | 7 | 8  | 7  | 8  | 7  | 7  |
| 5              | 4  | 4  | 7  | 8  | 8  | 4 | 4  | 4  | 6  | 8           | 8  | 5 | 3  | 4  | 6        | 2  | 6  | 4 | 5  | 5            | 6  | 3  | 6  | 5 | 5             | 5  | 6  | 3  | 6  | 5 | 5  | 5  | 6  | 3  | 6  |
| 5              | 5  | 5  | 7  | 4  | 7  | 7 | 7  | 7  | 7  | 4           | 7  | 8 | 5  | 5  | 5        | 5  | 5  | 8 | 7  | 7            | 6  | 6  | 6  | 8 | 6             | 6  | 7  | 6  | 7  | 8 | 6  | 6  | 5  | 5  | 5  |
| 8              | 4  | 2  | 8  | 2  | 8  | 8 | 7  | 2  | 7  | 7           | 8  | 8 | 7  | 5  | 7        | 4  | 8  | 8 | 7  | 4            | 7  | 5  | 8  | 8 | 8             | 4  | 8  | 4  | 8  | 8 | 8  | 4  | 8  | 4  | 9  |
| 6              | 6  | 7  | 7  | 7  | 4  | 7 | 7  | 5  | 5  | 5           | 5  | 5 | 5  | 6  | 3        | 1  | 4  | 6 | 6  | 6            | 3  | 1  | 3  | 9 | 9             | 7  | 6  | 5  | 3  | 6 | 6  | 5  | 6  | 5  | 7  |
| 5              | 3  | 7  | 7  | 7  | 8  | 4 | 2  | 7  | 7  | 8           | 8  | 1 | 1  | 1  | 3        | 1  | 8  | 1 | 3  | 3            | 3  | 7  | 8  | 7 | 3             | 3  | 3  | 1  | 8  | 1 | 1  | 1  | 3  | 1  | 8  |
| 8              | 3  | 3  | 3  | 4  | 4  | 8 | 3  | 3  | 3  | 4           | 4  | 3 | 4  | 7  | 4        | 2  | 7  | 7 | 3  | 6            | 4  | 1  | 4  | 7 | 7             | 6  | 6  | 2  | 7  | 7 | 6  | 7  | 8  | 2  | 7  |
| 6              | 6  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5 | 5  | 5  | 8  | 5           | 5  | 7 | 4  | 6  | 8        | 2  | 4  | 7 | 4  | 7            | 7  | 2  | 4  | 7 | 4             | 7  | 7  | 2  | 4  | 7 | 4  | 5  | 7  | 2  | 4  |
| 5              | 6  | 6  | 6  | 6  | 8  | 5 | 6  | 6  | 6  | 6           | 8  | 7 | 3  | 3  | 5        | 2  | 5  | 7 | 4  | 6            | 7  | 6  | 7  | 6 | 4             | 4  | 7  | 3  | 8  | 7 | 3  | 3  | 7  | 3  | 8  |
| 5              | 4  | 5  | 6  | 7  | 4  | 5 | 4  | 5  | 6  | 7           | 4  | 5 | 3  | 4  | 7        | 6  | 3  | 6 | 3  | 4            | 7  | 6  | 3  | 6 | 3             | 7  | 7  | 7  | 3  | 6 | 3  | 7  | 7  | 7  | 3  |
| 8              | 6  | 4  | 6  | 7  | 7  | 4 | 5  | 5  | 6  | 8           | 7  | 6 | 4  | 4  | 7        | 7  | 8  | 8 | 6  | 6            | 3  | 3  | 7  | 7 | 6             | 5  | 6  | 6  | 8  | 8 | 6  | 6  | 5  | 7  | 9  |
| 9              | 9  | 3  | 2  | 7  | 1  | 9 | 9  | 6  | 7  | 7           | 6  | 9 | 9  | 6  | 7        | 7  | 6  | 9 | 9  | 6            | 8  | 8  | 6  | 9 | 9             | 6  | 6  | 6  | 6  | 9 | 9  | 6  | 6  | 6  | 6  |
| 7              | 5  | 7  | 6  | 7  | 5  | 3 | 3  | 3  | 5  | 5           | 6  | 7 | 7  | 5  | 6        | 6  | 6  | 3 | 3  | 6            | 5  | 7  | 6  | 2 | 5             | 7  | 6  | 5  | 6  | 7 | 7  | 6  | 6  | 6  | 6  |
| 5              | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5 | 5  | 5  | 5  | 5           | 5  | 7 | 7  | 7  | 7        | 8  | 8  | 7 | 7  | 7            | 7  | 7  | 7  | 7 | 7             | 7  | 7  | 7  | 7  | 7 | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  |
| 5              | 8  | 4  | 5  | 7  | 9  | 7 | 6  | 5  | 7  | 8           | 8  | 8 | 3  | 6  | 5        | 2  | 6  | 8 | 5  | 5            | 7  | 5  | 6  | 8 | 4             | 6  | 7  | 4  | 6  | 9 | 5  | 5  | 7  | 5  | 7  |
| 5              | 4  | 5  | 9  | 4  | 1  | 7 | 2  | 5  | 7  | 4           | 2  | 8 | 3  | 2  | 8        | 1  | 1  | 8 | 4  | 5            | 5  | 1  | 1  | 8 | 2             | 2  | 7  | 1  | 1  | 8 | 5  | 5  | 7  | 2  | 2  |

ตารางที่ ค-3 (ต่อ) ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำผสมเก๋ากี้ โดยใช้อัตราส่วนของชาดำต่อเก๋ากี้ในอัตราส่วนต่างๆ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

| ชาดำผสมเก๋ากี้ |    |    |    |    |    |   |    |    |    |             |    |   |    |    |          |    |    |   |    |              |    |    |    |   |               |    |    |    |    |   |    |    |    |    |    |
|----------------|----|----|----|----|----|---|----|----|----|-------------|----|---|----|----|----------|----|----|---|----|--------------|----|----|----|---|---------------|----|----|----|----|---|----|----|----|----|----|
| ความใส         |    |    |    |    | สี |   |    |    |    | ความเปรี้ยว |    |   |    |    | ความหวาน |    |    |   |    | ความกลมกล่อม |    |    |    |   | ความชอบโดยรวม |    |    |    |    |   |    |    |    |    |    |
| c              | n1 | n2 | n3 | n4 | n5 | c | n1 | n2 | n3 | n4          | n5 | c | n1 | n2 | n3       | n4 | n5 | c | n1 | n2           | n3 | n4 | n5 | c | n1            | n2 | n3 | n4 | n5 | c | n1 | n2 | n3 | n4 | n5 |
| 7              | 6  | 5  | 7  | 7  | 7  | 7 | 6  | 7  | 7  | 7           | 7  | 6 | 2  | 8  | 7        | 8  | 8  | 6 | 2  | 7            | 7  | 6  | 8  | 7 | 2             | 8  | 5  | 7  | 8  | 7 | 2  | 8  | 6  | 7  | 8  |
| 7              | 7  | 7  | 7  | 7  | 7  | 7 | 7  | 7  | 7  | 7           | 7  | 5 | 5  | 5  | 7        | 5  | 5  | 5 | 7  | 5            | 7  | 5  | 5  | 7 | 7             | 5  | 5  | 5  | 6  | 6 | 6  | 6  | 6  | 5  | 5  |
| 6              | 4  | 6  | 6  | 4  | 5  | 5 | 5  | 5  | 5  | 5           | 5  | 7 | 5  | 7  | 7        | 5  | 4  | 7 | 5  | 6            | 6  | 4  | 4  | 7 | 6             | 7  | 8  | 5  | 4  | 8 | 5  | 7  | 7  | 5  | 4  |
| 5              | 5  | 5  | 3  | 3  | 4  | 5 | 5  | 5  | 5  | 6           | 5  | 7 | 8  | 7  | 8        | 9  | 7  | 6 | 8  | 8            | 7  | 6  | 7  | 7 | 8             | 8  | 8  | 8  | 7  | 7 | 8  | 8  | 8  | 8  | 6  |
| 5              | 2  | 6  | 9  | 4  | 7  | 4 | 1  | 8  | 6  | 5           | 8  | 7 | 6  | 8  | 9        | 2  | 1  | 8 | 7  | 7            | 9  | 4  | 6  | 9 | 6             | 7  | 9  | 1  | 4  | 8 | 6  | 7  | 9  | 2  | 4  |

\*หมายเหตุ

- C คือ คอมบูชา (ชาดำ) อัตราส่วน ชาดำ : เก๋ากี้ (1:0) ตัวควบคุม
- n1 คือ ชาดำผสมเก๋ากี้ อัตราส่วน ชาดำ : เก๋ากี้ (3:1)
- n2 คือ ชาดำผสมเก๋ากี้ อัตราส่วน ชาดำ : เก๋ากี้ (2:1)
- n3 คือ ชาดำผสมเก๋ากี้ อัตราส่วน ชาดำ : เก๋ากี้ (1:1)
- n4 คือ ชาดำผสมเก๋ากี้ อัตราส่วน ชาดำ : เก๋ากี้ (1:2)
- n5 คือ ชาดำผสมเก๋ากี้ อัตราส่วน ชาดำ : เก๋ากี้ (1:3)

## ภาคผนวก ง

### ข้อมูลดิบผลทางเคมี

ตารางที่ ง-1 ค่าพีเอชของการหมักคอมบูชา (ชาดำ) ชาดำผสมขิง ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพร 1:1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 20 วัน

| ระยะเวลาการหมัก (วัน) | พีเอชของการหมัก |           |      |            |           |      |                 |           |      |                |           |      |
|-----------------------|-----------------|-----------|------|------------|-----------|------|-----------------|-----------|------|----------------|-----------|------|
|                       | คอมบูชา (ชาดำ)  |           |      | ชาดำผสมขิง |           |      | ชาดำผสมสะระแหน่ |           |      | ชาดำผสมเก๋ากี้ |           |      |
|                       | 3 ซ้ำ           | ค่าเฉลี่ย | SD   | 3 ซ้ำ      | ค่าเฉลี่ย | SD   | 3 ซ้ำ           | ค่าเฉลี่ย | SD   | 3 ซ้ำ          | ค่าเฉลี่ย | SD   |
| 0                     | 4.19            | 4.37      | 0.22 | 4.40       | 4.36      | 0.07 | 4.25            | 4.24      | 0.07 | 4.23           | 2.83      | 0.06 |
|                       | 4.31            |           |      | 4.28       |           |      | 4.31            |           |      | 4.27           |           |      |
|                       | 4.62            |           |      | 4.40       |           |      | 4.17            |           |      | 4.36           |           |      |
| 5                     | 3.55            | 3.47      | 0.09 | 3.71       | 3.68      | 0.19 | 3.45            | 3.50      | 0.06 | 3.52           | 2.36      | 0.04 |
|                       | 3.48            |           |      | 3.47       |           |      | 3.48            |           |      | 3.56           |           |      |
|                       | 3.37            |           |      | 3.85       |           |      | 3.56            |           |      | 3.60           |           |      |
| 10                    | 3.08            | 2.92      | 0.22 | 3.29       | 3.20      | 0.26 | 3.05            | 2.97      | 0.09 | 3.08           | 2.03      | 0.07 |
|                       | 3.01            |           |      | 2.91       |           |      | 2.87            |           |      | 3.01           |           |      |
|                       | 2.67            |           |      | 3.41       |           |      | 3.00            |           |      | 3.14           |           |      |
| 15                    | 2.76            | 2.65      | 0.17 | 3.07       | 2.99      | 0.27 | 2.80            | 2.72      | 0.09 | 2.82           | 1.87      | 0.05 |
|                       | 2.73            |           |      | 2.69       |           |      | 2.62            |           |      | 2.79           |           |      |
|                       | 2.46            |           |      | 3.22       |           |      | 2.75            |           |      | 2.88           |           |      |
| 20                    | 2.69            | 2.55      | 0.15 | 2.92       | 2.81      | 0.22 | 2.69            | 2.64      | 0.06 | 2.72           | 1.82      | 0.06 |
|                       | 2.58            |           |      | 2.56       |           |      | 2.57            |           |      | 2.73           |           |      |
|                       | 2.39            |           |      | 2.96       |           |      | 2.65            |           |      | 2.83           |           |      |

ตารางที่ ง-2 ปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก) ของการหมักคอมบูชา (ชาดำ) ชาดำผสมขิง ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรมะนาว 1:1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 20 วัน

| ระยะเวลา<br>การหมัก<br>(วัน) | ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติกของน้ำหมัก (ร้อยละ) |           |      |            |           |      |                 |           |      |                |           |      |
|------------------------------|--|-----------|------|------------|-----------|------|-----------------|-----------|------|----------------|-----------|------|
|                              | คอมบูชา (ชาดำ)                                     |           |      | ชาดำผสมขิง |           |      | ชาดำผสมสะระแหน่ |           |      | ชาดำผสมเก๋ากี้ |           |      |
|                              | 3 ซ้ำ  | ค่าเฉลี่ย | SD   | 3 ซ้ำ      | ค่าเฉลี่ย | SD   | 3 ซ้ำ           | ค่าเฉลี่ย | SD   | 3 ซ้ำ          | ค่าเฉลี่ย | SD   |
| 0                            | 0.05   | 0.04      | 0.02 | 0.05       | 0.04      | 0.01 | 0.06            | 0.06      | 0    | 0.08           | 0.08      | 0.01 |
|                              | 0.07   |           |      | 0.04       |           |      | 0.06            |           |      | 0.08           |           |      |
|                              | 0.04   |           |      | 0.04       |           |      | 0.06            |           |      | 0.06           |           |      |
| 5                            | 0.12   | 0.09      | 0.02 | 0.11       | 0.11      | 0.03 | 0.24            | 0.20      | 0.04 | 0.23           | 0.21      | 0.02 |
|                              | 0.16   |           |      | 0.14       |           |      | 0.19            |           |      | 0.20           |           |      |
|                              | 0.12   |           |      | 0.08       |           |      | 0.16            |           |      | 0.19           |           |      |
| 10                           | 0.35   | 0.27      | 0.06 | 0.25       | 0.29      | 0.12 | 0.62            | 0.67      | 0.09 | 0.59           | 0.60      | 0.04 |
|                              | 0.47   |           |      | 0.42       |           |      | 0.78            |           |      | 0.65           |           |      |
|                              | 0.44   |           |      | 0.19       |           |      | 0.60            |           |      | 0.58           |           |      |
| 15                           | 0.66   | 0.49      | 0.08 | 0.40       | 0.48      | 0.19 | 1.18            | 1.09      | 0.19 | 0.90           | 0.99      | 0.07 |
|                              | 0.80   |           |      | 0.71       |           |      | 1.22            |           |      | 1.03           |           |      |
|                              | 0.80   |           |      | 0.35       |           |      | 0.88            |           |      | 1.03           |           |      |
| 20                           | 1.04   | 0.81      | 0.19 | 0.79       | 0.87      | 0.28 | 1.44            | 1.60      | 0.19 | 1.30           | 1.26      | 0.15 |
|                              | 1.38   |           |      | 1.18       |           |      | 1.81            |           |      | 1.39           |           |      |
|                              | 1.36   |           |      | 0.64       |           |      | 1.56            |           |      | 1.09           |           |      |

ตารางที่ ง-3 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของการหมักคอมบูชา (ชาดำ) ชาดำผสมขิง ชาดำผสมสะระแหน่ และชาดำผสมเก๋ากี้ ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพร 1:1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 20 วัน

| ระยะเวลา<br>การหมัก<br>(วัน) | ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์) |           |      |            |           |      |                 |           |      |                |           |      |
|------------------------------|---------------------------------------|-----------|------|------------|-----------|------|-----------------|-----------|------|----------------|-----------|------|
|                              | คอมบูชา (ชาดำ)                        |           |      | ชาดำผสมขิง |           |      | ชาดำผสมสะระแหน่ |           |      | ชาดำผสมเก๋ากี้ |           |      |
|                              | 3 ซ้ำ                                 | ค่าเฉลี่ย | SD   | 3 ซ้ำ      | ค่าเฉลี่ย | SD   | 3 ซ้ำ           | ค่าเฉลี่ย | SD   | 3 ซ้ำ          | ค่าเฉลี่ย | SD   |
| 0                            | 12.10                                 | 12.2      | 0.1  | 10.60      | 10.4      | 0.20 | 14.00           | 13.1      | 1.39 | 10.20          | 11.3      | 1.03 |
|                              | 12.30                                 |           |      | 10.40      |           |      | 13.80           |           |      | 11.60          |           |      |
|                              | 12.20                                 |           |      | 10.20      |           |      | 11.50           |           |      | 12.20          |           |      |
| 5                            | 12.40                                 | 12.4      | 0.06 | 10.00      | 10.1      | 0.12 | 13.00           | 13.1      | 0.31 | 12.40          | 12.7      | 0.23 |
|                              | 12.50                                 |           |      | 10.00      |           |      | 12.80           |           |      | 12.80          |           |      |
|                              | 12.40                                 |           |      | 10.20      |           |      | 13.40           |           |      | 12.80          |           |      |
| 10                           | 12.00                                 | 12.1      | 0.70 | 9.90       | 9.9       | 0.06 | 12.60           | 12.0      | 0.60 | 11.20          | 11.7      | 0.46 |
|                              | 11.40                                 |           |      | 10.00      |           |      | 11.40           |           |      | 11.80          |           |      |
|                              | 12.80                                 |           |      | 10.00      |           |      | 12.00           |           |      | 12.10          |           |      |
| 15                           | 11.80                                 | 11.8      | 0.15 | 9.90       | 9.8       | 0.06 | 12.10           | 11.9      | 0.38 | 11.80          | 11.7      | 0.66 |
|                              | 11.60                                 |           |      | 9.80       |           |      | 12.20           |           |      | 11.00          |           |      |
|                              | 11.90                                 |           |      | 9.90       |           |      | 11.50           |           |      | 12.30          |           |      |
| 20                           | 11.20                                 | 11.7      | 0.75 | 9.90       | 9.7       | 0.38 | 11.80           | 11.2      | 0.60 | 10.30          | 10.9      | 0.57 |
|                              | 11.40                                 |           |      | 9.60       |           |      | 10.60           |           |      | 11.40          |           |      |
|                              | 12.60                                 |           |      | 9.70       |           |      | 11.20           |           |      | 11.10          |           |      |

## ภาคผนวก จ

### ข้อมูลดิบผลทางชีวภาพ

ตารางที่ จ-1 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของชาหมักคอมบูชาแต่ละชนิด โดยใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรร 1:1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 0 วัน (ภายหลังเติมหัวเชื้อ)

| ระยะเวลาการหมัก (วัน) | ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช |           |      |            |           |      |                 |           |      |                |           |      |
|-----------------------|--------------------------------------|-----------|------|------------|-----------|------|-----------------|-----------|------|----------------|-----------|------|
|                       | คอมบูชา (ชาดำ)                       |           |      | ชาดำผสมขิง |           |      | ชาดำผสมสะระแหน่ |           |      | ชาดำผสมเก๋ากี้ |           |      |
|                       | 18 ชั่วโมง                           | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง      | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง     | ค่าเฉลี่ย | SD   |
| 0                     | 75.50                                | 75.5      | 2.43 | 75.95      | 71.9      | 3.24 | 69.68           | 69.6      | 2.02 | 74.09          | 74.0      | 3.55 |
|                       | 68.19                                |           |      | 73.22      |           |      | 68.97           |           |      | 72.24          |           |      |
|                       | 74.66                                |           |      | 74.31      |           |      | 67.54           |           |      | 76.97          |           |      |
|                       | 73.86                                |           |      | 66.22      |           |      | 70.92           |           |      | 76.36          |           |      |
|                       | 73.48                                |           |      | 71.13      |           |      | 71.20           |           |      | 70.70          |           |      |
|                       | 75.39                                |           |      | 67.18      |           |      | 67.59           |           |      | 76.03          |           |      |
|                       | 74.41                                |           |      | 71.07      |           |      | 66.61           |           |      | 72.61          |           |      |
|                       | 72.76                                |           |      | 77.78      |           |      | 74.90           |           |      | 76.03          |           |      |
|                       | 77.55                                |           |      | 73.10      |           |      | 69.61           |           |      | 71.67          |           |      |
|                       | 71.12                                |           |      | 74.58      |           |      | 72.16           |           |      | 77.92          |           |      |
|                       | 74.77                                |           |      | 73.77      |           |      | 70.13           |           |      | 74.80          |           |      |
|                       | 72.44                                |           |      | 69.08      |           |      | 67.59           |           |      | 73.22          |           |      |
|                       | 76.05                                |           |      | 71.43      |           |      | 70.04           |           |      | 65.44          |           |      |
|                       | 68.76                                |           |      | 67.03      |           |      | 67.05           |           |      | 73.62          |           |      |
|                       | 75.85                                |           |      | 70.69      |           |      | 70.49           |           |      | 68.79          |           |      |
|                       | 74.77                                |           |      | 74.08      |           |      | 70.39           |           |      | 74.96          |           |      |
|                       | 73.11                                |           |      | 68.84      |           |      | 69.77           |           |      | 74.63          |           |      |
|                       | 72.62                                |           |      | 74.09      |           |      | 68.98           |           |      | 81.16          |           |      |

ตารางที่ จ-2 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระดีทีพีไอของชาหมักคอมบูชาแต่ละชนิด โดยใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรร 1:1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 5 วัน

| ระยะเวลาการหมัก (วัน) | ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระดีทีพีไอ |           |      |            |           |      |                 |           |      |                |           |      |
|-----------------------|-------------------------------------|-----------|------|------------|-----------|------|-----------------|-----------|------|----------------|-----------|------|
|                       | คอมบูชา (ชาดำ)                      |           |      | ชาดำผสมขิง |           |      | ชาดำผสมสะระแหน่ |           |      | ชาดำผสมเก๋ากี้ |           |      |
|                       | 18 ชั่วโมง                          | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง      | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง     | ค่าเฉลี่ย | SD   |
| 5                     | 75.43                               | 76.6      | 1.59 | 76.27      | 78.7      | 2.81 | 76.27           | 78.7      | 1.23 | 77.46          | 79.5      | 2.58 |
|                       | 75.94                               |           |      | 77.81      |           |      | 77.81           |           |      |                |           |      |
|                       | 79.14                               |           |      | 77.31      |           |      | 77.31           |           |      |                |           |      |
|                       | 76.02                               |           |      | 79.03      |           |      | 79.03           |           |      |                |           |      |
|                       | 77.03                               |           |      | 81.26      |           |      | 81.26           |           |      |                |           |      |
|                       | 75.95                               |           |      | 81.72      |           |      | 81.72           |           |      |                |           |      |
|                       | 77.14                               |           |      | 75.65      |           |      | 75.65           |           |      |                |           |      |
|                       | 78.13                               |           |      | 83.20      |           |      | 83.20           |           |      |                |           |      |
|                       | 76.28                               |           |      | 78.09      |           |      | 78.09           |           |      |                |           |      |
|                       | 74.07                               |           |      | 77.00      |           |      | 77.00           |           |      |                |           |      |
|                       | 78.81                               |           |      | 81.11      |           |      | 81.11           |           |      |                |           |      |
|                       | 75.78                               |           |      | 76.74      |           |      | 76.74           |           |      |                |           |      |
|                       | 76.36                               |           |      | 76.73      |           |      | 76.73           |           |      |                |           |      |
|                       | 74.16                               |           |      | 74.33      |           |      | 74.33           |           |      |                |           |      |
|                       | 74.44                               |           |      | 83.10      |           |      | 83.10           |           |      |                |           |      |
|                       | 77.97                               |           |      | 77.31      |           |      | 77.31           |           |      |                |           |      |
|                       | 78.61                               |           |      | 76.31      |           |      | 76.31           |           |      |                |           |      |
|                       | 78.20                               |           |      | 82.93      |           |      | 82.93           |           |      |                |           |      |

ตารางที่ จ-3 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของชาหมักคอมบูชาแต่ละชนิด โดยใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรร 1:1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 10 วัน

| ระยะเวลาการหมัก (วัน) | ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช |           |      |            |           |      |                 |           |      |                |           |      |
|-----------------------|--------------------------------------|-----------|------|------------|-----------|------|-----------------|-----------|------|----------------|-----------|------|
|                       | คอมบูชา (ชาดำ)                       |           |      | ชาดำผสมขิง |           |      | ชาดำผสมสะระแหน่ |           |      | ชาดำผสมเก๋ากี้ |           |      |
|                       | 18 ชั่วโมง                           | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง      | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง     | ค่าเฉลี่ย | SD   |
| 10                    | 85.74                                | 85.21     | 1.19 | 88.68      | 86.90     | 2.10 | 83.45           | 84.18     | 1.06 | 87.80          | 85.83     | 2.45 |
|                       | 84.50                                |           |      | 86.36      |           |      | 84.73           |           |      | 81.84          |           |      |
|                       | 85.99                                |           |      | 86.85      |           |      | 83.83           |           |      | 87.74          |           |      |
|                       | 85.06                                |           |      | 88.46      |           |      | 84.49           |           |      | 87.49          |           |      |
|                       | 86.67                                |           |      | 85.83      |           |      | 84.77           |           |      | 86.92          |           |      |
|                       | 84.59                                |           |      | 87.40      |           |      | 84.19           |           |      | 89.60          |           |      |
|                       | 85.54                                |           |      | 85.53      |           |      | 85.49           |           |      | 85.28          |           |      |
|                       | 83.85                                |           |      | 88.18      |           |      | 85.09           |           |      | 80.61          |           |      |
|                       | 85.27                                |           |      | 86.39      |           |      | 83.83           |           |      | 85.52          |           |      |
|                       | 83.76                                |           |      | 87.09      |           |      | 84.67           |           |      | 88.49          |           |      |
|                       | 85.90                                |           |      | 85.32      |           |      | 82.04           |           |      | 85.96          |           |      |
|                       | 86.23                                |           |      | 85.31      |           |      | 83.39           |           |      | 84.20          |           |      |
|                       | 86.14                                |           |      | 88.95      |           |      | 83.01           |           |      | 85.79          |           |      |
|                       | 84.34                                |           |      | 80.6       |           |      | 84.27           |           |      | 84.60          |           |      |
|                       | 86.94                                |           |      | 87.95      |           |      | 83.11           |           |      | 84.72          |           |      |
|                       | 83.21                                |           |      | 89.65      |           |      | 83.12           |           |      | 87.22          |           |      |
|                       | 84.57                                |           |      | 86.34      |           |      | 86.24           |           |      | 82.58          |           |      |
|                       | 85.41                                |           |      | 89.30      |           |      | 85.52           |           |      | 88.66          |           |      |

ตารางที่ จ-4 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของชาหมักคอมบูชาแต่ละชนิด โดยใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรร 1:1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 15 วัน

| ระยะเวลาการหมัก (วัน) | ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช |           |      |            |           |      |                 |           |      |                |           |      |
|-----------------------|--------------------------------------|-----------|------|------------|-----------|------|-----------------|-----------|------|----------------|-----------|------|
|                       | คอมบูชา (ชาดำ)                       |           |      | ชาดำผสมขิง |           |      | ชาดำผสมสะระแหน่ |           |      | ชาดำผสมเก๋ากี้ |           |      |
|                       | 18 ชั่วโมง                           | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง      | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง     | ค่าเฉลี่ย | SD   |
| 15                    | 85.74                                | 85.21     | 1.04 | 82.24      | 87.32     | 4.28 | 86.03           | 85.39     | 1.30 | 86.42          | 86.63     | 1.38 |
|                       | 84.50                                |           |      | 81.54      |           |      | 86.56           |           |      | 87.17          |           |      |
|                       | 85.99                                |           |      | 88.66      |           |      | 85.20           |           |      | 88.60          |           |      |
|                       | 85.06                                |           |      | 93.58      |           |      | 84.53           |           |      | 85.62          |           |      |
|                       | 86.67                                |           |      | 89.06      |           |      | 86.26           |           |      | 87.01          |           |      |
|                       | 84.59                                |           |      | 87.86      |           |      | 86.38           |           |      | 86.92          |           |      |
|                       | 85.54                                |           |      | 85.66      |           |      | 86.70           |           |      | 85.14          |           |      |
|                       | 83.85                                |           |      | 91.37      |           |      | 86.04           |           |      | 87.92          |           |      |
|                       | 85.27                                |           |      | 87.70      |           |      | 83.18           |           |      | 87.74          |           |      |
|                       | 83.76                                |           |      | 86.54      |           |      | 84.90           |           |      | 85.62          |           |      |
|                       | 85.90                                |           |      | 91.07      |           |      | 83.02           |           |      | 87.01          |           |      |
|                       | 86.23                                |           |      | 84.97      |           |      | 86.75           |           |      | 85.03          |           |      |
|                       | 86.14                                |           |      | 83.20      |           |      | 84.48           |           |      | 84.04          |           |      |
|                       | 84.34                                |           |      | 89.64      |           |      | 85.17           |           |      | 85.32          |           |      |
|                       | 86.94                                |           |      | 86.25      |           |      | 84.49           |           |      | 85.32          |           |      |
|                       | 83.21                                |           |      | 87.04      |           |      | 85.45           |           |      | 88.66          |           |      |
|                       | 84.57                                |           |      | 85.28      |           |      | 83.97           |           |      | 88.51          |           |      |
|                       | 85.41                                |           |      | 90.03      |           |      | 87.87           |           |      | 87.26          |           |      |

ตารางที่ จ-5 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของชาหมักคอมบูชาแต่ละชนิด โดยใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรร 1:1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| ระยะเวลาการหมัก (วัน) | ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช |           |      |            |           |      |                 |           |      |                |           |      |
|-----------------------|--------------------------------------|-----------|------|------------|-----------|------|-----------------|-----------|------|----------------|-----------|------|
|                       | คอมบูชา (ชาดำ)                       |           |      | ชาดำผสมขิง |           |      | ชาดำผสมสะระแหน่ |           |      | ชาดำผสมเก๋ากี้ |           |      |
|                       | 18 ชั่วโมง                           | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง      | ค่าเฉลี่ย | SD   | 18 ชั่วโมง     | ค่าเฉลี่ย | SD   |
| 20                    | 85.64                                | 86.26     | 1.02 | 82.24      | 87.32     | 3.24 | 91.81           | 90.39     | 0.95 | 89.22          | 89.56     | 2.37 |
|                       | 86.36                                |           |      | 81.54      |           |      | 88.58           |           |      | 92.15          |           |      |
|                       | 84.91                                |           |      | 88.66      |           |      | 90.21           |           |      | 94.91          |           |      |
|                       | 84.46                                |           |      | 93.58      |           |      | 90.55           |           |      | 88.87          |           |      |
|                       | 85.71                                |           |      | 89.06      |           |      | 90.72           |           |      | 89.13          |           |      |
|                       | 86.42                                |           |      | 87.86      |           |      | 90.58           |           |      | 87.00          |           |      |
|                       | 86.44                                |           |      | 85.66      |           |      | 90.87           |           |      | 88.94          |           |      |
|                       | 88.36                                |           |      | 91.37      |           |      | 89.78           |           |      | 93.90          |           |      |
|                       | 85.64                                |           |      | 87.70      |           |      | 89.00           |           |      | 86.42          |           |      |
|                       | 86.22                                |           |      | 86.54      |           |      | 91.78           |           |      | 88.48          |           |      |
|                       | 86.92                                |           |      | 91.07      |           |      | 90.00           |           |      | 90.64          |           |      |
|                       | 88.12                                |           |      | 84.97      |           |      | 89.75           |           |      | 86.15          |           |      |
|                       | 84.97                                |           |      | 83.2       |           |      | 90.34           |           |      | 88.94          |           |      |
|                       | 86.98                                |           |      | 89.64      |           |      | 91.35           |           |      | 91.41          |           |      |
|                       | 87.12                                |           |      | 86.25      |           |      | 90.81           |           |      | 88.9           |           |      |
|                       | 86.59                                |           |      | 87.04      |           |      | 90.06           |           |      | 87.43          |           |      |
|                       | 85.98                                |           |      | 85.28      |           |      | 89.04           |           |      | 89.25          |           |      |
|                       | 85.82                                |           |      | 90.03      |           |      | 91.78           |           |      | 90.28          |           |      |

ตารางที่ จ-6 ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระตีพีพีเอชของชาหมักคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังการปรับปรุงรสชาติ

| ชนิดของชาหมัก   | การปรับปรุงรสชาติ | ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระตีพีพีเอช |       |       |       |       |       | เฉลี่ย | SD   |
|-----------------|-------------------|--------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|------|
|                 |                   |                                      |       |       |       |       |       |        |      |
| คอมบูชา (ชาดำ)  | ก่อน              | 87.71                                | 85.61 | 86.8  | 87.28 | 88.29 | 85.86 | 86.93  | 1.05 |
|                 | หลัง              | 83.86                                | 83.99 | 80.34 | 83.24 | 81.24 | 82.24 | 82.49  | 1.48 |
| ชาดำผสมขิง      | ก่อน              | 86.63                                | 86.94 | 85.02 | 85.57 | 87.93 | 86.1  | 88.67  | 1.03 |
|                 | หลัง              | 85.99                                | 85.53 | 86.49 | 85.29 | 87.73 | 84.95 | 84.91  | 1.00 |
| ชาดำผสมสะระแหน่ | ก่อน              | 88.48                                | 89.54 | 88    | 91.65 | 89.94 | 89.51 | 86.37  | 1.18 |
|                 | หลัง              | 84.62                                | 82.9  | 82    | 83.99 | 80.79 | 82.85 | 86.00  | 1.37 |
| ชาดำผสมเก๋ากี้  | ก่อน              | 88.83                                | 88.92 | 88.66 | 88.74 | 88.7  | 88.19 | 89.52  | 0.25 |
|                 | หลัง              | 86.26                                | 85.35 | 84.04 | 85.58 | 83.71 | 84.49 | 82.86  | 0.98 |

ตารางที่ จ-7 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ATCC 85922 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                |                    |            |                 |                |
|-------------|--|----------------|--------------------|------------|-----------------|----------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ                               | คอมบูชา (ชาดำ) | ชาดำไม่ผ่านการหมัก | ชาดำผสมขิง | ชาดำผสมสะระแหน่ | ชาดำผสมเก๋ากี้ |
|             | 5 ซ้ำ                                    | 5 ซ้ำ          | 5 ซ้ำ              | 5 ซ้ำ      | 5 ซ้ำ           | 5 ซ้ำ          |
| 0           | 14.97                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 15.05                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 14.56                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.07                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 14.42                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| เฉลี่ย      | 14.41                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| SD          | 0.80                                     | 0              | 0                  | 0          | 0               | 0              |
| 5           | 14.01                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.51                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 15.1                                     | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 14.4                                     | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 14.48                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| เฉลี่ย      | 14.30                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| SD          | 0.59                                     | 0              | 0                  | 0          | 0               | 0              |
| 10          | 14.37                                    | 8.25           | 6                  | 6          | 7.98            | 6              |
|             | 14.31                                    | 9.1            | 6                  | 6          | 8.05            | 6.59           |
|             | 14.30                                    | 8.69           | 6                  | 6          | 8.81            | 6.37           |
|             | 13.81                                    | 8.92           | 6                  | 6          | 7.32            | 6.6            |
|             | 14.56                                    | 9.01           | 6                  | 6          | 7.55            | 6.6            |
| เฉลี่ย      | 14.27                                    | 8.79           | 6                  | 6          | 7.94            | 6.43           |
| SD          | 0.28                                     | 0.34           | 0                  | 0          | 0.57            | 0.26           |

ตารางที่ จ-7 (ต่อ) ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ATCC 85922 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรมะนาว 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                |                    |            |                 |                |
|-------------|--|----------------|--------------------|------------|-----------------|----------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ                               | คอมบูชา (ชาดำ) | ชาดำไม่ผ่านการหมัก | ชาดำผสมขิง | ชาดำผสมสะระแหน่ | ชาดำผสมเก๋ากี้ |
|             | 5 ซ้ำ                                    | 5 ซ้ำ          | 5 ซ้ำ              | 5 ซ้ำ      | 5 ซ้ำ           | 5 ซ้ำ          |
| 15          | 14.41                                    | 8.91           | 6                  | 6          | 10.48           | 8.28           |
|             | 15.53                                    | 8.83           | 6                  | 6          | 8.57            | 8.54           |
|             | 14.68                                    | 9.18           | 6                  | 6          | 10.72           | 8.33           |
|             | 15.09                                    | 8.24           | 6                  | 6          | 10.54           | 9.45           |
|             | 15.55                                    | 8.85           | 6                  | 6          | 8.36            | 9.54           |
| เฉลี่ย      | 15.05                                    | 8.80           | 6                  | 6          | 9.73            | 8.83           |
| SD          | 0.51                                     | 0.34           | 0                  | 0          | 1.16            | 0.62           |
| 20          | 13.67                                    | 8.68           | 6                  | 6          | 9.65            | 7.81           |
|             | 13.66                                    | 9.58           | 6                  | 6          | 10.52           | 9.4            |
|             | 13.29                                    | 9.18           | 6                  | 6          | 9.13            | 9.37           |
|             | 14.28                                    | 8.91           | 6                  | 6          | 10.78           | 8.3            |
|             | 13.46                                    | 9.17           | 6                  | 6          | 9.33            | 9.69           |
| เฉลี่ย      | 13.67                                    | 9.10           | 6                  | 6          | 9.88            | 8.91           |
| SD          | 0.38                                     | 0.33           | 0                  | 0          | 0.73            | 0.81           |

ตารางที่ จ-8 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรมะขาม 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                |                    |            |                 |                |
|-------------|--|----------------|--------------------|------------|-----------------|----------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ                               | คอมบูชา (ชาดำ) | ชาดำไม่ผ่านการหมัก | ชาดำผสมขิง | ชาดำผสมสะระแหน่ | ชาดำผสมเก๋ากี้ |
|             | 5 ซ้ำ                                    | 5 ซ้ำ          | 5 ซ้ำ              | 5 ซ้ำ      | 5 ซ้ำ           | 5 ซ้ำ          |
| 0           | 13.2                                     | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.95                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.51                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 14.78                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 14.16                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| เฉลี่ย      | 13.92                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| SD          | 0.61                                     | 0              | 0                  | 0          | 0               | 0              |
| 5           | 11.25                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 11.43                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 11.38                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 11.6                                     | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 11.21                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| เฉลี่ย      | 11.37                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| SD          | 0.15                                     | 0              | 0                  | 0          | 0               | 0              |
| 10          | 13.21                                    | 6              | 6                  | 6          | 8.5             | 6              |
|             | 12.9                                     | 6              | 6                  | 6          | 9.72            | 6              |
|             | 13.46                                    | 6              | 6                  | 6          | 8.84            | 6              |
|             | 13.82                                    | 6              | 6                  | 6          | 9               | 6              |
|             | 13.85                                    | 6              | 6                  | 6          | 9.96            | 6              |
| เฉลี่ย      | 13.45                                    | 6              | 6                  | 6          | 9.20            | 6              |
| SD          | 0.40                                     | 0              | 0                  | 0          | 0.62            | 0              |

ตารางที่ จ-8 (ต่อ) ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                |                    |            |                 |                |
|-------------|--|----------------|--------------------|------------|-----------------|----------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ                               | คอมบูชา (ชาดำ) | ชาดำไม่ผ่านการหมัก | ชาดำผสมขิง | ชาดำผสมสะระแหน่ | ชาดำผสมเก๋ากี้ |
|             | 5 ซ้ำ                                    | 5 ซ้ำ          | 5 ซ้ำ              | 5 ซ้ำ      | 5 ซ้ำ           | 5 ซ้ำ          |
| 15          | 11.82                                    | 9.99           | 6                  | 6          | 10.31           | 10.2           |
|             | 11.14                                    | 8.99           | 6                  | 6          | 10.45           | 10.54          |
|             | 13.24                                    | 8.84           | 6                  | 6          | 10.48           | 10.96          |
|             | 12.54                                    | 9.45           | 6                  | 6          | 10.19           | 9.24           |
|             | 13.72                                    | 9.83           | 6                  | 6          | 10.04           | 10.05          |
| เฉลี่ย      | 12.49                                    | 9.42           | 6                  | 6          | 10.29           | 10.20          |
| SD          | 1.04                                     | 0.50           | 0                  | 0          | 0.18            | 0.64           |
| 20          | 13.41                                    | 10.85          | 6                  | 9.57       | 12.18           | 10.98          |
|             | 13.53                                    | 10.59          | 6                  | 10.35      | 12.13           | 11.06          |
|             | 13.37                                    | 9.98           | 6                  | 9.59       | 12.47           | 10.62          |
|             | 13.16                                    | 10.37          | 6                  | 10.03      | 12.02           | 12.29          |
|             | 13.68                                    | 11.22          | 6                  | 9.98       | 12.08           | 10.3           |
| เฉลี่ย      | 13.43                                    | 10.60          | 6                  | 9.90       | 12.18           | 11.05          |
| SD          | 0.19                                     | 0.47           | 0                  | 0.33       | 0.17            | 0.76           |

ตารางที่ จ-9 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *V. parahaemolyticus* TISTR 1596 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                |             |            |                 |                |
|-------------|--|----------------|-------------|------------|-----------------|----------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ                               | คอมบูชา (ชาดำ) | ชาดำไม่หมัก | ชาดำผสมขิง | ชาดำผสมสะระแหน่ | ชาดำผสมเก๊กฮวย |
|             | 5 ซ้ำ                                    | 5 ซ้ำ          | 5 ซ้ำ       | 5 ซ้ำ      | 5 ซ้ำ           | 5 ซ้ำ          |
| 0           | 12.6                                     | 6              | 6           | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.96                                    | 6              | 6           | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.73                                    | 6              | 6           | 6          | 6               | 6              |
|             | 12.87                                    | 6              | 6           | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.98                                    | 6              | 6           | 6          | 6               | 6              |
| เฉลี่ย      | 13.43                                    | 6              | 6           | 6          | 6               | 6              |
| SD          | 0.65                                     | 0              | 0           | 0          | 0               | 0              |
| 5           | 13.95                                    | 6              | 6           | 6          | 6               | 6              |
|             | 14.86                                    | 6              | 6           | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.28                                    | 6              | 6           | 6          | 6               | 6              |
|             | 14.78                                    | 6              | 6           | 6          | 6               | 6              |
|             | 15.76                                    | 6              | 6           | 6          | 6               | 6              |
| เฉลี่ย      | 14.53                                    | 6              | 6           | 6          | 6               | 6              |
| SD          | 0.94                                     | 0              | 0           | 0          | 0               | 0              |
| 10          | 13.28                                    | 6.25           | 6           | 7.33       | 8.4             | 7.84           |
|             | 13.74                                    | 6.57           | 6           | 7.1        | 6.52            | 7.92           |
|             | 13.86                                    | 7.32           | 6           | 6.66       | 7.07            | 7.58           |
|             | 14.19                                    | 7.67           | 6           | 6.45       | 9.15            | 7.78           |
|             | 13.13                                    | 6.89           | 6           | 6.31       | 8.15            | 7.63           |
| เฉลี่ย      | 13.64                                    | 6.94           | 6           | 6.77       | 7.86            | 7.75           |
| SD          | 0.43                                     | 0.57           | 0           | 0.43       | 1.06            | 0.14           |

ตารางที่ จ-9 (ต่อ) ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *V. parahaemolyticus* TISTR 1596 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                |                    |            |                 |                |
|-------------|--|----------------|--------------------|------------|-----------------|----------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ                               | คอมบูชา (ชาดำ) | ชาดำไม่ผ่านการหมัก | ชาดำผสมขิง | ชาดำผสมสะระแหน่ | ชาดำผสมเก๋ากี้ |
|             | 5 ซ้ำ                                    | 5 ซ้ำ          | 5 ซ้ำ              | 5 ซ้ำ      | 5 ซ้ำ           | 5 ซ้ำ          |
| 15          | 13.03                                    | 6              | 6                  | 6          | 8.62            | 9.31           |
|             | 13.39                                    | 6              | 6                  | 6          | 7.85            | 9.55           |
|             | 13.79                                    | 6              | 6                  | 6          | 8.75            | 8.42           |
|             | 13.67                                    | 6              | 6                  | 6          | 7.86            | 8.6            |
|             | 12.78                                    | 6              | 6                  | 6          | 7.91            | 8.28           |
| เฉลี่ย      | 13.33                                    | 6              | 6                  | 6          | 8.20            | 8.83           |
| SD          | 0.42                                     | 0              | 0                  | 0          | 0.45            | 0.56           |
| 20          | 14.07                                    | 9.87           | 6                  | 9.51       | 9.47            | 9.98           |
|             | 14.5                                     | 9.9            | 6                  | 9.61       | 9.53            | 10.63          |
|             | 14.5                                     | 9.54           | 6                  | 10.15      | 9.54            | 11.16          |
|             | 14.11                                    | 9.16           | 6                  | 10.14      | 8.98            | 9.95           |
|             | 14.58                                    | 10.86          | 6                  | 9.79       | 8.92            | 10.29          |
| เฉลี่ย      | 14.35                                    | 9.87           | 6                  | 9.84       | 9.29            | 10.40          |
| SD          | 0.24                                     | 0.63           | 0                  | 0.30       | 0.31            | 0.51           |

ตารางที่ จ-10 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                |                    |            |                 |                |
|-------------|--|----------------|--------------------|------------|-----------------|----------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ                               | คอมบูชา (ชาดำ) | ชาดำไม่ผ่านการหมัก | ชาดำผสมขิง | ชาดำผสมสะระแหน่ | ชาดำผสมเก๋ากี้ |
|             | 5 ซ้ำ                                    | 5 ซ้ำ          | 5 ซ้ำ              | 5 ซ้ำ      | 5 ซ้ำ           | 5 ซ้ำ          |
| 0           | 14.03                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 14                                       | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.75                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.72                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.63                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| เฉลี่ย      | 13.83                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| SD          | 0.18                                     | 0              | 0                  | 0          | 0               | 0              |
| 5           | 14.98                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 12.2                                     | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.64                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 14.21                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.84                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| เฉลี่ย      | 13.77                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| SD          | 1.02                                     | 0              | 0                  | 0          | 0               | 0              |
| 10          | 12.39                                    | 9.85           | 6                  | 6          | 9.91            | 6              |
|             | 13.52                                    | 8.97           | 6                  | 6          | 9.32            | 6              |
|             | 12.95                                    | 8.71           | 6                  | 6          | 9.79            | 6              |
|             | 13.78                                    | 9.11           | 6                  | 6          | 9.98            | 6              |
|             | 13.07                                    | 9.03           | 6                  | 6          | 9.99            | 6              |
| เฉลี่ย      | 13.14                                    | 9.13           | 6                  | 6          | 9.80            | 6              |
| SD          | 0.54                                     | 0.43           | 0                  | 0          | 0.28            | 0              |

ตารางที่ จ-10 (ต่อ) ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                |                    |            |                 |                |
|-------------|--|----------------|--------------------|------------|-----------------|----------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ                               | คอมบูชา (ชาดำ) | ชาดำไม่ผ่านการหมัก | ชาดำผสมขิง | ชาดำผสมสะระแหน่ | ชาดำผสมเก๋ากี้ |
|             | 5 ซ้ำ                                    | 5 ซ้ำ          | 5 ซ้ำ              | 5 ซ้ำ      | 5 ซ้ำ           | 5 ซ้ำ          |
| 15          | 13.74                                    | 9.62           | 6                  | 6          | 10.27           | 8.89           |
|             | 13.71                                    | 9.19           | 6                  | 6          | 9.18            | 8.04           |
|             | 12.72                                    | 9.22           | 6                  | 6          | 10.29           | 8.72           |
|             | 13.61                                    | 9.35           | 6                  | 6          | 10.42           | 9.29           |
|             | 13.3                                     | 9.15           | 6                  | 6          | 9.99            | 9.42           |
| เฉลี่ย      | 13.41                                    | 9.31           | 6                  | 6          | 10.03           | 8.87           |
| SD          | 0.43                                     | 0.19           | 0                  | 0          | 0.50            | 0.55           |
| 20          | 14.62                                    | 12.46          | 6                  | 11.68      | 12.95           | 12             |
|             | 15.66                                    | 11.97          | 6                  | 10.27      | 14.69           | 11.82          |
|             | 15.41                                    | 12.29          | 6                  | 10.46      | 10.74           | 11.53          |
|             | 14.49                                    | 10.29          | 6                  | 11.26      | 11.65           | 10.88          |
|             | 13.44                                    | 11.26          | 6                  | 11.21      | 12.5            | 11.75          |
| เฉลี่ย      | 14.72                                    | 11.65          | 6                  | 10.98      | 12.51           | 11.60          |
| SD          | 0.88                                     | 0.89           | 0                  | 0.59       | 1.49            | 0.43           |

ตารางที่ จ-11 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                |                    |            |                 |                |
|-------------|--|----------------|--------------------|------------|-----------------|----------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ                               | คอมบูชา (ชาดำ) | ชาดำไม่ผ่านการหมัก | ชาดำผสมขิง | ชาดำผสมสะระแหน่ | ชาดำผสมเก๋ากี้ |
|             | 5 ซ้ำ                                    | 5 ซ้ำ          | 5 ซ้ำ              | 5 ซ้ำ      | 5 ซ้ำ           | 5 ซ้ำ          |
| 0           | 11.29                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 10.32                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 10.48                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 12.81                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 11.69                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| เฉลี่ย      | 9.22                                     | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| SD          | 1.01                                     | 0              | 0                  | 0          | 0               | 0              |
| 5           | 9.85                                     | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 9.49                                     | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 12.07                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 11.68                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 11.46                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| เฉลี่ย      | 10.91                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| SD          | 1.16                                     | 0              | 0                  | 0          | 0               | 0              |
| 10          | 11.23                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 11.67                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 10.92                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 11.12                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 11.64                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| เฉลี่ย      | 11.32                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| SD          | 0.33                                     | 0              | 0                  | 0          | 0               | 0              |

ตารางที่ จ-11 (ต่อ) ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                |                    |            |                 |                |
|-------------|--|----------------|--------------------|------------|-----------------|----------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ                               | คอมบูชา (ชาดำ) | ชาดำไม่ผ่านการหมัก | ชาดำผสมขิง | ชาดำผสมสะระแหน่ | ชาดำผสมเก๋ากี้ |
|             | 5 ซ้ำ                                    | 5 ซ้ำ          | 5 ซ้ำ              | 5 ซ้ำ      | 5 ซ้ำ           | 5 ซ้ำ          |
| 15          | 12.8                                     | 9.22           | 6                  | 6          | 9.49            | 8.93           |
|             | 11.96                                    | 8.91           | 6                  | 6          | 8.95            | 9.03           |
|             | 11.37                                    | 9.48           | 6                  | 6          | 8.44            | 9.84           |
|             | 12.9                                     | 8.98           | 6                  | 6          | 9.25            | 8.99           |
|             | 13.47                                    | 9.10           | 6                  | 6          | 8.24            | 9.47           |
| เฉลี่ย      | 12.5                                     | 9.14           | 6                  | 6          | 8.87            | 9.25           |
| SD          | 0.83                                     | 0.23           | 0                  | 0          | 0.53            | 0.39           |
| 20          | 12.8                                     | 9.8            | 6                  | 9.13       | 11.05           | 11.07          |
|             | 11.96                                    | 9.11           | 6                  | 10.15      | 11.65           | 10.05          |
|             | 11.3                                     | 9.54           | 6                  | 8.65       | 11.33           | 11.61          |
|             | 11.37                                    | 9.69           | 6                  | 9.31       | 11.37           | 11.93          |
|             | 12.9                                     | 9.85           | 6                  | 11.8       | 11.44           | 11.64          |
| เฉลี่ย      | 12.07                                    | 9.60           | 6                  | 9.81       | 11.37           | 11.26          |
| SD          | 0.76                                     | 0.30           | 0                  | 1.24       | 0.21            | 0.74           |

ตารางที่ จ-12 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella typhimurium* TISTR 1469 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรมะนาว 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                         |                             |                     |                          |                         |
|-------------|--|-------------------------|-----------------------------|---------------------|--------------------------|-------------------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ<br>5 ซ้ำ                      | คอมบูชา (ชาดำ)<br>5 ซ้ำ | ชาดำไม่ผ่านการหมัก<br>5 ซ้ำ | ชาดำผสมขิง<br>5 ซ้ำ | ชาดำผสมสะระแหน่<br>5 ซ้ำ | ชาดำผสมเก๋ากี้<br>5 ซ้ำ |
| 0           | 13.42                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 14.64                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 13.72                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 12.07                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 15.24                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
| เฉลี่ย      | 13.82                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
| SD          | 1.22                                     | 0                       | 0                           | 0                   | 0                        | 0                       |
| 5           | 15.7                                     | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 15.45                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 15.1                                     | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 14.21                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 15.68                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
| เฉลี่ย      | 15.23                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
| SD          | 0.62                                     | 0                       | 0                           | 0                   | 0                        | 0                       |
| 10          | 13.94                                    | 8.15                    | 6                           | 6                   | 8.73                     | 7.35                    |
|             | 12.23                                    | 7.73                    | 6                           | 6                   | 8.85                     | 7.56                    |
|             | 12.16                                    | 8.76                    | 6                           | 6                   | 8.95                     | 8.01                    |
|             | 14.97                                    | 7.82                    | 6                           | 6                   | 8.89                     | 8.43                    |
|             | 14.87                                    | 7.86                    | 6                           | 6                   | 9.01                     | 8.24                    |
| เฉลี่ย      | 13.63                                    | 8.06                    | 6                           | 6                   | 8.89                     | 7.92                    |
| SD          | 1.38                                     | 0.42                    | 0                           | 0                   | 0.10                     | 0.45                    |

ตารางที่ จ-12 (ต่อ) ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella typhimurium* TISTR 1469 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพร 1:1 หมักที่ อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                |                    |            |                 |                |
|-------------|--|----------------|--------------------|------------|-----------------|----------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ                               | คอมบูชา (ชาดำ) | ชาดำไม่ผ่านการหมัก | ชาดำผสมขิง | ชาดำผสมสะระแหน่ | ชาดำผสมเก๋ากี้ |
|             | 5 ซ้ำ                                    | 5 ซ้ำ          | 5 ซ้ำ              | 5 ซ้ำ      | 5 ซ้ำ           | 5 ซ้ำ          |
| 15          | 12.51                                    | 7.82           | 6                  | 7.89       | 7.42            | 8.48           |
|             | 15.47                                    | 7.88           | 6                  | 8.19       | 8.04            | 9.08           |
|             | 14.7                                     | 8.09           | 6                  | 8.71       | 8.94            | 9.36           |
|             | 14.3                                     | 8.06           | 6                  | 8.56       | 9.43            | 8.77           |
|             | 14.35                                    | 9.62           | 6                  | 8.63       | 10.69           | 8.96           |
| เฉลี่ย      | 14.27                                    | 8.29           | 6                  | 8.40       | 8.90            | 8.93           |
| SD          | 1.09                                     | 0.75           | 0                  | 0.35       | 1.27            | 0.33           |
| 20          | 14.74                                    | 10.25          | 6                  | 10.61      | 10.41           | 9.92           |
|             | 14.79                                    | 9.49           | 6                  | 10.15      | 10.94           | 9.06           |
|             | 15.64                                    | 9.05           | 6                  | 11.14      | 10.61           | 10.64          |
|             | 14.83                                    | 10.03          | 6                  | 8.54       | 10.03           | 9.06           |
|             | 15.78                                    | 9.88           | 6                  | 8.72       | 9.67            | 9.7            |
| เฉลี่ย      | 15.16                                    | 9.74           | 6                  | 9.83       | 10.33           | 9.68           |
| SD          | 0.51                                     | 0.47           | 0                  | 1.15       | 0.49            | 0.66           |

ตารางที่ จ-13 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans* ATCC 90028 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                         |                             |                     |                          |                         |
|-------------|--|-------------------------|-----------------------------|---------------------|--------------------------|-------------------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ<br>5 ซ้ำ                      | คอมบูชา (ชาดำ)<br>5 ซ้ำ | ชาดำไม่ผ่านการหมัก<br>5 ซ้ำ | ชาดำผสมขิง<br>5 ซ้ำ | ชาดำผสมสะระแหน่<br>5 ซ้ำ | ชาดำผสมเก๋ากี้<br>5 ซ้ำ |
| 0           | 14.44                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 14.75                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 15.79                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 13.56                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 13.4                                     | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
| เฉลี่ย      | 14.39                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
| SD          | 0.97                                     | 0                       | 0                           | 0                   | 0                        | 0                       |
| 5           | 13.76                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 15.28                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 13.87                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 15.12                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 14.12                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
| เฉลี่ย      | 14.43                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
| SD          | 0.72                                     | 0                       | 0                           | 0                   | 0                        | 0                       |
| 10          | 13.61                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 14.42                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 14.5                                     | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 15.95                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 14.98                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
| เฉลี่ย      | 14.69                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
| SD          | 0.86                                     | 0                       | 0                           | 0                   | 0                        | 0                       |

ตารางที่ จ-13 (ต่อ) ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans* ATCC 90028 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                |                    |            |                 |                |
|-------------|--|----------------|--------------------|------------|-----------------|----------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ                               | คอมบูชา (ชาดำ) | ชาดำไม่ผ่านการหมัก | ชาดำผสมขิง | ชาดำผสมสะระแหน่ | ชาดำผสมเก๋ากี้ |
|             | 5 ซ้ำ                                    | 5 ซ้ำ          | 5 ซ้ำ              | 5 ซ้ำ      | 5 ซ้ำ           | 5 ซ้ำ          |
| 15          | 13.53                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.12                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.74                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.88                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 14.37                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| เฉลี่ย      | 13.73                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| SD          | 0.46                                     | 0              | 0                  | 0          | 0               | 0              |
| 20          | 14.16                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 14.13                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.73                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.62                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
|             | 13.09                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| เฉลี่ย      | 13.75                                    | 6              | 6                  | 6          | 6               | 6              |
| SD          | 0.44                                     | 0              | 0                  | 0          | 0               | 0              |

ตารางที่ จ-14 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *B.cereus* ATCC 6633 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                         |                             |                     |                          |                         |
|-------------|--|-------------------------|-----------------------------|---------------------|--------------------------|-------------------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ<br>5 ซ้ำ                      | คอมบูชา (ชาดำ)<br>5 ซ้ำ | ชาดำไม่ผ่านการหมัก<br>5 ซ้ำ | ชาดำผสมขิง<br>5 ซ้ำ | ชาดำผสมสะระแหน่<br>5 ซ้ำ | ชาดำผสมเก๋ากี้<br>5 ซ้ำ |
| 0           | 13.26                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 11.2                                     | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 12.46                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 13.02                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 12.15                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
| เฉลี่ย      | 12.42                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
| SD          | 0.81                                     | 0                       | 0                           | 0                   | 0                        | 0                       |
| 5           | 12.45                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 12.8                                     | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 11.97                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 11.7                                     | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
|             | 12.58                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
| เฉลี่ย      | 12.30                                    | 6                       | 6                           | 6                   | 6                        | 6                       |
| SD          | 0.45                                     | 0                       | 0                           | 0                   | 0                        | 0                       |
| 10          | 11.8                                     | 8.22                    | 6                           | 6                   | 8.37                     | 8.22                    |
|             | 12.01                                    | 8.06                    | 6                           | 6                   | 7.4                      | 8.47                    |
|             | 12.43                                    | 7.25                    | 6                           | 6                   | 8.9                      | 7.85                    |
|             | 12.4                                     | 7.55                    | 6                           | 6                   | 8.57                     | 8.07                    |
|             | 12.09                                    | 7.98                    | 6                           | 6                   | 8.42                     | 7.96                    |
| เฉลี่ย      | 12.15                                    | 7.81                    | 6                           | 6                   | 8.33                     | 8.11                    |
| SD          | 0.27                                     | 0.40                    | 0                           | 0                   | 0.56                     | 0.24                    |

ตารางที่ จ-14 (ต่อ) ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *B.cereus* ATCC 6633 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

| วันที่ทดสอบ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |                |                    |            |                 |                |
|-------------|--|----------------|--------------------|------------|-----------------|----------------|
|             | ยาปฏิชีวนะ                               | คอมบูชา (ชาดำ) | ชาดำไม่ผ่านการหมัก | ชาดำผสมขิง | ชาดำผสมสะระแหน่ | ชาดำผสมเก๋ากี้ |
|             | 5 ซ้ำ                                    | 5 ซ้ำ          | 5 ซ้ำ              | 5 ซ้ำ      | 5 ซ้ำ           | 5 ซ้ำ          |
| 15          | 12.7                                     | 9.01           | 6                  | 6          | 10.86           | 8.48           |
|             | 12.56                                    | 8.72           | 6                  | 6          | 9.69            | 8.49           |
|             | 11.63                                    | 8.58           | 6                  | 6          | 8.79            | 8.19           |
|             | 11.51                                    | 9.12           | 6                  | 6          | 8.37            | 8.07           |
|             | 11.32                                    | 8.81           | 6                  | 6          | 8.28            | 8.64           |
| เฉลี่ย      | 11.94                                    | 8.85           | 6                  | 6          | 9.20            | 8.37           |
| SD          | 0.64                                     | 0.22           | 0                  | 0          | 1.08            | 0.24           |
| 20          | 13.09                                    | 9.32           | 6                  | 8.88       | 10.27           | 10.23          |
|             | 14.31                                    | 9.82           | 6                  | 10.51      | 11.18           | 9.29           |
|             | 13.07                                    | 9.17           | 6                  | 8.7        | 10.48           | 9.43           |
|             | 14.76                                    | 8.7            | 6                  | 8.66       | 9.43            | 10.59          |
|             | 11.46                                    | 9.66           | 6                  | 9.34       | 10.2            | 8.99           |
| เฉลี่ย      | 13.34                                    | 9.33           | 6                  | 9.22       | 10.31           | 9.71           |
| SD          | 1.29                                     | 0.44           | 0                  | 0.77       | 0.63            | 0.67           |

ตารางที่ จ-15 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน ของชาหมักคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังการปรับปรุงรสชาติ

| ชนิดของชาหมัก   | การปรับปรุงรสชาติ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |       |       |       |       | เฉลี่ย | SD   |
|-----------------|-------------------|--|-------|-------|-------|-------|--------|------|
|                 |                   | 1  | 2     | 3     | 4     | 5     |        |      |
| คอมบูชา (ชาดำ)  | ก่อน              | 8.98                                     | 8.80  | 9.56  | 9.89  | 10.01 | 9.45   | 0.45 |
|                 | หลัง              | 6.00                                     | 6.00  | 6.25  | 6.65  | 6.89  | 6.36   | 0.40 |
| ชาดำผสมขิง      | ก่อน              | 8.68                                     | 9.77  | 9.83  | 8.14  | 8.10  | 8.90   | 0.85 |
|                 | หลัง              | 6.00                                     | 6.00  | 6.00  | 6.12  | 6.34  | 6.10   | 0.15 |
| ชาดำผสมสะระแหน่ | ก่อน              | 11.81                                    | 12.25 | 12.55 | 11.91 | 12.87 | 12.28  | 0.44 |
|                 | หลัง              | 6.00                                     | 6.00  | 6.87  | 6.64  | 6.33  | 6.37   | 0.39 |
| ชาดำผสมเก๋ากี้  | ก่อน              | 11.09                                    | 11.25 | 1.88  | 1.76  | 11.29 | 11.05  | 0.23 |
|                 | หลัง              | 6.00                                     | 6.11  | 6.08  | 6.00  | 6.00  | 6.04   | 0.60 |

ตารางที่ จ-16 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* ATCC 85922 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรมะนาว 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน ของชาหมักคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังการปรับปรุงรสชาติ

| ชนิดของชาหมัก   | การปรับปรุงรสชาติ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |      |      |       |       | เฉลี่ย | SD   |
|-----------------|-------------------|--|------|------|-------|-------|--------|------|
|                 |                   | 1  | 2    | 3    | 4     | 5     |        |      |
| คอมบูชา (ชาดำ)  | ก่อน              | 9.68                                     | 8.53 | 9.29 | 10.39 | 8.49  | 9.28   | 0.81 |
|                 | หลัง              | 9.04                                     | 8.10 | 9.04 | 8.27  | 10.40 | 8.97   | 0.91 |
| ชาดำผสมขิง      | ก่อน              | 6.00                                     | 6.00 | 6.00 | 6.00  | 6.00  | 6.00   | 0.00 |
|                 | หลัง              | 6.00                                     | 6.00 | 6.00 | 6.00  | 6.00  | 6.00   | 0.00 |
| ชาดำผสมสะระแหน่ | ก่อน              | 9.39                                     | 9.01 | 8.92 | 10.41 | 10.14 | 9.57   | 0.67 |
|                 | หลัง              | 9.34                                     | 6.00 | 6.00 | 6.00  | 8.56  | 7.18   | 1.64 |
| ชาดำผสมเก๋ากี้  | ก่อน              | 8.66                                     | 9.73 | 8.73 | 8.25  | 9.43  | 8.96   | 0.90 |
|                 | หลัง              | 8.76                                     | 6.00 | 6.00 | 6.00  | 6.00  | 6.55   | 0.66 |

ตารางที่ จ-17 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *V. parahaemolyticus* TISTR 1596 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน ของชาหมักคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังการปรับปรุงรสชาติ

| ชนิดของชาหมัก  | การปรับปรุงรสชาติ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |      |      |       |       | เฉลี่ย | SD   |
|----------------|-------------------|--|------|------|-------|-------|--------|------|
|                |                   | 8.83                                     | 9.05 | 8.94 | 9.62  | 10.12 |        |      |
| คอมบูชา (ชาดำ) | ก่อน              | 8.83                                     | 9.05 | 8.94 | 9.62  | 10.12 | 9.31   | 0.54 |
|                | หลัง              | 6.15                                     | 6.17 | 7.02 | 6.14  | 6.22  | 6.34   | 0.38 |
| ชาดำผสมชิง     | ก่อน              | 8.05                                     | 9.29 | 9.48 | 8.22  | 9.49  | 8.90   | 0.71 |
|                | หลัง              | 7.03                                     | 6.11 | 6.11 | 6.04  | 6.31  | 6.32   | 0.41 |
| ชาดำผสมสระแห่น | ก่อน              | 9.05                                     | 9.17 | 9.19 | 8.86  | 8.31  | 8.92   | 0.36 |
|                | หลัง              | 7.23                                     | 8.56 | 8.44 | 9.65  | 7.98  | 8.37   | 0.88 |
| ชาดำผสมเก๋ากี้ | ก่อน              | 9.08                                     | 9.09 | 9.21 | 10.14 | 10.71 | 9.65   | 0.74 |
|                | หลัง              | 7.48                                     | 9.10 | 8.97 | 8.90  | 8.93  | 8.68   | 0.67 |

ตารางที่ จ-18 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* ATCC 27853 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน ของชาหมักคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังการปรับปรุงรสชาติ

| ชนิดของชาหมัก   | การปรับปรุงรสชาติ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |       |       |       |       | เฉลี่ย | SD   |
|-----------------|-------------------|--|-------|-------|-------|-------|--------|------|
|                 |                   | 1  | 2     | 3     | 4     | 5     |        |      |
| คอมบูชา (ชาดำ)  | ก่อน              | 9.58                                     | 9.72  | 9.97  | 10.27 | 10.55 | 10.02  | 0.40 |
|                 | หลัง              | 8.31                                     | 9.21  | 8.13  | 7.90  | 9.43  | 8.60   | 0.68 |
| ชาดำผสมขิง      | ก่อน              | 10.93                                    | 11.21 | 10.03 | 10.44 | 11.50 | 10.82  | 0.59 |
|                 | หลัง              | 8.21                                     | 8.17  | 8.28  | 8.38  | 8.46  | 8.30   | 0.12 |
| ชาดำผสมสะระแหน่ | ก่อน              | 12.36                                    | 12.26 | 12.64 | 11.08 | 11.33 | 11.93  | 0.69 |
|                 | หลัง              | 8.09                                     | 7.95  | 7.32  | 7.79  | 8.21  | 7.87   | 0.35 |
| ชาดำผสมเก๋ากี้  | ก่อน              | 11.88                                    | 12.30 | 11.64 | 11.01 | 12.03 | 11.77  | 0.49 |
|                 | หลัง              | 7.50                                     | 7.42  | 6.00  | 6.00  | 6.00  | 6.58   | 0.80 |

ตารางที่ จ-19 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน ของชาหมักคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังการปรับปรุงรสชาติ

| ชนิดของชาหมัก  | การปรับปรุงรสชาติ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |       |       |       |       | เฉลี่ย | SD   |
|----------------|-------------------|--|-------|-------|-------|-------|--------|------|
|                |                   | 1  | 2     | 3     | 4     | 5     |        |      |
| คอมบูชา (ชาดำ) | ก่อน              | 9.44                                     | 9.09  | 9.27  | 9.97  | 9.57  | 9.47   | 0.33 |
|                | หลัง              | 9.41                                     | 9.86  | 9.04  | 8.11  | 7.42  | 8.78   | 0.99 |
| ชาดำผสมชิง     | ก่อน              | 10.85                                    | 8.64  | 9.14  | 9.48  | 9.61  | 9.54   | 0.82 |
|                | หลัง              | 6.00                                     | 6.00  | 6.00  | 6.00  | 6.00  | 6.00   | 0.00 |
| ชาดำผสมสระแห่  | ก่อน              | 11.57                                    | 1.83  | 11.92 | 12.56 | 10.50 | 11.48  | 0.83 |
|                | หลัง              | 6.00                                     | 6.00  | 6.00  | 6.00  | 6.00  | 6.00   | 0.00 |
| ชาดำผสมเก๋ากี้ | ก่อน              | 11.86                                    | 11.70 | 12.29 | 10.26 | 11.34 | 11.49  | 0.77 |
|                | หลัง              | 6.00                                     | 6.00  | 6.00  | 6.00  | 6.00  | 6.00   | 0.00 |

ตารางที่ จ-20 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella typhimurium* TISTR 1469 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน ของชาหมักคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังการปรับปรุงรสชาติ

| ชนิดของชาหมัก   | การปรับปรุงรสชาติ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |       |       |      |      | เฉลี่ย | SD   |
|-----------------|-------------------|--|-------|-------|------|------|--------|------|
|                 |                   |  |       |       |      |      |        |      |
| คอมบูชา (ชาดำ)  | ก่อน              | 7.62                                     | 9.27  | 9.96  | 8.22 | 9.00 | 8.81   | 0.91 |
|                 | หลัง              | 7.98                                     | 7.23  | 7.95  | 7.41 | 7.90 | 7.69   | 0.35 |
| ชาดำผสมขิง      | ก่อน              | 9.09                                     | 10.35 | 11.79 | 7.88 | 8.80 | 9.58   | 1.52 |
|                 | หลัง              | 6.00                                     | 6.00  | 6.00  | 6.00 | 6.00 | 6.00   | 0.00 |
| ชาดำผสมสะระแหน่ | ก่อน              | 9.65                                     | 9.08  | 8.90  | 9.05 | 8.74 | 9.08   | 0.34 |
|                 | หลัง              | 8.35                                     | 8.52  | 6.00  | 6.00 | 6.00 | 6.97   | 1.34 |
| ชาดำผสมเก๋ากี้  | ก่อน              | 9.40                                     | 8.94  | 12.15 | 9.85 | 9.15 | 15.54  | 1.30 |
|                 | หลัง              | 9.08                                     | 6.00  | 6.00  | 6.00 | 6.00 | 6.62   | 1.38 |

ตารางที่ จ-21 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans* ATCC 90028 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน ของชาหมักคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังการปรับปรุงรสชาติ

| ชนิดของชาหมัก   | การปรับปรุงรสชาติ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |      |      |      |      | เฉลี่ย | SD   |
|-----------------|-------------------|--|------|------|------|------|--------|------|
|                 |                   | 1  | 2    | 3    | 4    | 5    |        |      |
| คอมบูชา (ชาดำ)  | ก่อน              | 6.00                                     | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00   | 0.00 |
|                 | หลัง              | 6.00                                     | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00   | 0.00 |
| ชาดำผสมขิง      | ก่อน              | 6.00                                     | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00   | 0.00 |
|                 | หลัง              | 6.00                                     | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00   | 0.00 |
| ชาดำผสมสะระแหน่ | ก่อน              | 6.00                                     | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00   | 0.00 |
|                 | หลัง              | 6.00                                     | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00   | 0.00 |
| ชาดำผสมเก๋ากี้  | ก่อน              | 6.00                                     | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00   | 0.00 |
|                 | หลัง              | 6.00                                     | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00 | 6.00   | 0.00 |

ตารางที่ จ-22 ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *B.cereus* ATCC 6633 ในคอมบูชาแต่ละชนิด ใช้อัตราส่วนของชาดำต่อสมุนไพรร 1:1 หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน ของชาหมักคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังการปรับปรุงรสชาติ

| ชนิดของชาหมัก   | การปรับปรุงรสชาติ | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร) |      |      |       |       | เฉลี่ย | SD   |
|-----------------|-------------------|--|------|------|-------|-------|--------|------|
|                 |                   | 1  | 2    | 3    | 4     | 5     |        |      |
| คอมบูชา (ชาดำ)  | ก่อน              | 8.66                                     | 9.48 | 8.68 | 9.97  | 9.19  | 9.20   | 0.56 |
|                 | หลัง              | 8.23                                     | 9.51 | 7.21 | 7.93  | 9.65  | 8.51   | 1.05 |
| ชาดำผสมขิง      | ก่อน              | 10.32                                    | 9.83 | 8.84 | 10.39 | 10.41 | 9.96   | 0.67 |
|                 | หลัง              | 6.00                                     | 6.00 | 6.00 | 6.00  | 6.00  | 6.00   | 0.00 |
| ชาดำผสมสะระแหน่ | ก่อน              | 9.86                                     | 9.83 | 9.04 | 9.45  | 9.93  | 9.62   | 0.38 |
|                 | หลัง              | 6.00                                     | 6.00 | 6.00 | 8.65  | 8.02  | 6.93   | 1.30 |
| ชาดำผสมเก๋ากี้  | ก่อน              | 9.62                                     | 9.26 | 9.52 | 9.37  | 10.64 | 9.68   | 0.55 |
|                 | หลัง              | 6.00                                     | 6.00 | 7.73 | 6.00  | 6.00  | 6.35   | 0.77 |

## ภาคผนวก ฉ

### การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวางแผนการทดลองแบบสุ่ม (Completely Randomized Design; CRD) โดยใช้โปรแกรม SPSS โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างแต่ละตัวอย่างด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ ฉ-1 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำผสมชิง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 10 วัน

ANOVA

คะแนนความพึงพอใจในการทดสอบทางประสาทสัมผัส

|   |                | Sum of Squares | df  | Mean Square | F     | Sig. |
|---|----------------|----------------|-----|-------------|-------|------|
| A | Between Groups | 13.040         | 5   | 2.608       | 1.281 | .275 |
|   | Within Groups  | 293.200        | 144 | 2.036       |       |      |
|   | Total          | 306.240        | 149 |             |       |      |
| B | Between Groups | 6.193          | 5   | 1.239       | .552  | .736 |
|   | Within Groups  | 322.890        | 144 | 2.242       |       |      |
|   | Total          | 329.073        | 149 |             |       |      |
| C | Between Groups | 27.760         | 5   | 5.552       | 1.241 | .293 |
|   | Within Groups  | 644.240        | 144 | 4.474       |       |      |
|   | Total          | 672.000        | 149 |             |       |      |
| D | Between Groups | 13.253         | 5   | 2.651       | .593  | .706 |
|   | Within Groups  | 644.080        | 144 | 4.473       |       |      |
|   | Total          | 657.333        | 149 |             |       |      |
| E | Between Groups | 41.740         | 5   | 8.348       | 1.738 | .129 |
|   | Within Groups  | 691.520        | 144 | 4.802       |       |      |
|   | Total          | 733.260        | 149 |             |       |      |
| F | Between Groups | 33.093         | 5   | 6.619       | 1.520 | .187 |
|   | Within Groups  | 627.200        | 144 | 4.356       |       |      |
|   | Total          | 660.293        | 149 |             |       |      |

\*หมายเหตุ

A แทนความใส, B แทนสี, C แทนความเปรี้ยว, D แทนความหวาน, E แทนความกลมกล่อม

F แทนความชอบโดยรวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คะแนนความพึงพอใจในการทดสอบทางประสาทสัมผัส

คะแนนความใส

| sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |
|---------|----|-------------------------|
|         |    | 1                       |
| P1      | 25 | 5.8000                  |
| control | 25 | 5.9600                  |
| P2      | 25 | 6.4000                  |
| P3      | 25 | 6.4000                  |
| P5      | 25 | 6.5200                  |
| P4      | 25 | 6.6000                  |
| Sig.    |    | .085                    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

คะแนนสี

| sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |
|---------|----|-------------------------|
|         |    | 1                       |
| P4      | 25 | 6.2800                  |
| P2      | 25 | 6.3200                  |
| P1      | 25 | 6.3600                  |
| P3      | 25 | 6.3600                  |
| control | 25 | 6.4800                  |
| P5      | 25 | 6.8800                  |
| Sig.    |    | .223                    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### คะแนนความเปรี้ยว

| sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |
|---------|----|-------------------------|
|         |    | 1                       |
| P1      | 25 | 4.6400                  |
| P2      | 25 | 5.1600                  |
| P5      | 25 | 5.3200                  |
| P4      | 25 | 5.5600                  |
| P3      | 25 | 5.7600                  |
| control | 25 | 5.9600                  |
| Sig.    |    | .054                    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

### คะแนนความหวาน

| sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |
|---------|----|-------------------------|
|         |    | 1                       |
| P1      | 25 | 5.0400                  |
| P5      | 25 | 5.2000                  |
| P2      | 25 | 5.3200                  |
| P4      | 25 | 5.6400                  |
| P3      | 25 | 5.7600                  |
| control | 25 | 5.8400                  |
| Sig.    |    | .251                    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ความกลมกล่อม

| sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |        |
|---------|----|-------------------------|--------|
|         |    | 1                       | 2      |
| P1      | 25 | 4.6000                  |        |
| P2      | 25 | 5.3200                  | 5.3200 |
| P5      | 25 | 5.5200                  | 5.5200 |
| P3      | 25 | 5.7200                  | 5.7200 |
| P4      | 25 | 5.7200                  | 5.7200 |
| control | 25 |                         | 6.3600 |
| Sig.    |    | .110                    | .139   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

### ความชอบโดยรวม

| sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |        |
|---------|----|-------------------------|--------|
|         |    | 1                       | 2      |
| P1      | 25 | 5.0400                  |        |
| P2      | 25 | 5.6400                  | 5.6400 |
| P5      | 25 | 5.9600                  | 5.9600 |
| P3      | 25 | 6.0000                  | 6.0000 |
| P4      | 25 | 6.1600                  | 6.1600 |
| control | 25 |                         | 6.5600 |
| Sig.    |    | .093                    | .170   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

\*หมายเหตุ

- Control แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 1:0
- P1 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 3:1
- P2 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 2:1
- P3 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 1:1
- P4 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 1:2
- P5 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 1:3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑-2 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำสมสาระแทน หมักที่อุณหภูมิห้องเป็น  
ระยะเวลา 10 วัน

## ANOVA

คะแนนความพึงพอใจในการทดสอบทางประสาทสัมผัส

|   |                | Sum of Squares | df  | Mean Square | F     | Sig. |
|---|----------------|----------------|-----|-------------|-------|------|
| A | Between Groups | 24.833         | 5   | 4.967       | 2.064 | .073 |
|   | Within Groups  | 346.560        | 144 | 2.407       |       |      |
|   | Total          | 371.393        | 149 |             |       |      |
| B | Between Groups | 19.840         | 5   | 3.968       | 1.752 | .127 |
|   | Within Groups  | 326.160        | 144 | 2.265       |       |      |
|   | Total          | 346.000        | 149 |             |       |      |
| C | Between Groups | 27.413         | 5   | 5.483       | 1.430 | .217 |
|   | Within Groups  | 552.080        | 144 | 3.834       |       |      |
|   | Total          | 579.493        | 149 |             |       |      |
| D | Between Groups | 14.720         | 5   | 2.944       | .803  | .549 |
|   | Within Groups  | 527.840        | 144 | 3.666       |       |      |
|   | Total          | 542.560        | 149 |             |       |      |
| E | Between Groups | 33.073         | 5   | 6.615       | 1.791 | .118 |
|   | Within Groups  | 531.760        | 144 | 3.693       |       |      |
|   | Total          | 564.833        | 149 |             |       |      |
| F | Between Groups | 32.380         | 5   | 6.476       | 2.095 | .069 |
|   | Within Groups  | 445.120        | 144 | 3.091       |       |      |
|   | Total          | 477.500        | 149 |             |       |      |

\*หมายเหตุ

A แทนความใส, B แทนสี, C แทนความเปรี้ยว, D แทนความหวาน, E แทนความกลมกล่อม

F แทนความชอบโดยรวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คะแนนความพึงพอใจในการทดสอบทางประสาทสัมผัส

คะแนนความใส

| Sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |        |
|---------|----|-------------------------|--------|
|         |    | 1                       | 2      |
| K1      | 25 | 5.5600                  |        |
| K2      | 25 | 5.8000                  | 5.8000 |
| Control | 25 | 6.1200                  | 6.1200 |
| K5      | 25 | 6.4400                  | 6.4400 |
| K3      | 25 |                         | 6.5600 |
| K4      | 25 |                         | 6.6800 |
| Sig.    |    | .068                    | .075   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

คะแนนสี

| Sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |        |
|---------|----|-------------------------|--------|
|         |    | 1                       | 2      |
| K1      | 25 | 5.7600                  |        |
| K2      | 25 | 6.1200                  | 6.1200 |
| K5      | 25 | 6.4400                  | 6.4400 |
| Control | 25 | 6.5200                  | 6.5200 |
| K3      | 25 |                         | 6.7600 |
| K4      | 25 |                         | 6.8000 |
| Sig.    |    | .106                    | .160   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### คะแนนความเปรียบ

| Sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |        |
|---------|----|-------------------------|--------|
|         |    | 1                       | 2      |
| K1      | 25 | 5.0000                  |        |
| K2      | 25 | 5.6800                  | 5.6800 |
| K5      | 25 | 5.8800                  | 5.8800 |
| Control | 25 | 6.0000                  | 6.0000 |
| K4      | 25 | 6.0000                  | 6.0000 |
| K3      | 25 |                         | 6.4000 |
| Sig.    |    | .111                    | .255   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

### คะแนนความหวาน

| Sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |
|---------|----|-------------------------|
|         |    | 1                       |
| K1      | 25 | 5.2800                  |
| K4      | 25 | 5.4400                  |
| K5      | 25 | 5.5600                  |
| K2      | 25 | 5.6000                  |
| K3      | 25 | 5.6800                  |
| Control | 25 | 6.2800                  |
| Sig.    |    | .109                    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ความกลมกล่อม

| Sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |        |
|---------|----|-------------------------|--------|
|         |    | 1                       | 2      |
| K1      | 25 | 5.2400                  |        |
| K2      | 25 | 5.7600                  | 5.7600 |
| K4      | 25 | 5.8000                  | 5.8000 |
| K5      | 25 | 5.8800                  | 5.8800 |
| K3      | 25 |                         | 6.4800 |
| Control | 25 |                         | 6.6400 |
| Sig.    |    | .290                    | .154   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

### ความชอบโดยรวม

| Sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |        |
|---------|----|-------------------------|--------|
|         |    | 1                       | 2      |
| K1      | 25 | 5.5200                  |        |
| K2      | 25 | 6.0000                  | 6.0000 |
| K4      | 25 | 6.2800                  | 6.2800 |
| K5      | 25 | 6.3200                  | 6.3200 |
| K3      | 25 |                         | 6.7600 |
| Control | 25 |                         | 6.9200 |
| Sig.    |    | .146                    | .102   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

### \*หมายเหตุ

- Control แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 1:0
- K1 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 3:1
- K2 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 2:1
- K3 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 1:1
- K4 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 1:2
- K5 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 1:3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๓-3 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาดำผสมเก๋ากี้ หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 10 วัน

## ANOVA

คะแนนความพึงพอใจในการทดสอบทางประสาทสัมผัส

|   |                | Sum of Squares | df  | Mean Square | F     | Sig. |
|---|----------------|----------------|-----|-------------|-------|------|
| A | Between Groups | 24.513         | 5   | 4.903       | 1.522 | .186 |
|   | Within Groups  | 463.760        | 144 | 3.221       |       |      |
|   | Total          | 488.273        | 149 |             |       |      |
| B | Between Groups | 30.773         | 5   | 6.155       | 2.060 | .074 |
|   | Within Groups  | 430.320        | 144 | 2.988       |       |      |
|   | Total          | 461.093        | 149 |             |       |      |
| C | Between Groups | 63.953         | 5   | 12.791      | 3.042 | .012 |
|   | Within Groups  | 605.520        | 144 | 4.205       |       |      |
|   | Total          | 669.473        | 149 |             |       |      |
| D | Between Groups | 32.933         | 5   | 6.587       | 1.912 | .096 |
|   | Within Groups  | 496.160        | 144 | 3.446       |       |      |
|   | Total          | 529.093        | 149 |             |       |      |
| E | Between Groups | 76.373         | 5   | 15.275      | 4.096 | .002 |
|   | Within Groups  | 536.960        | 144 | 3.729       |       |      |
|   | Total          | 613.333        | 149 |             |       |      |
| F | Between Groups | 56.213         | 5   | 11.243      | 3.056 | .012 |
|   | Within Groups  | 529.680        | 144 | 3.678       |       |      |
|   | Total          | 585.893        | 149 |             |       |      |

\*หมายเหตุ

A แทนความใส, B แทนสี, C แทนความเปรี้ยว, D แทนความหวาน, E แทนความกลมกล่อม

F แทนความชอบโดยรวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คะแนนความพึงพอใจในการทดสอบทางประสาทสัมผัส

Duncan

คะแนนความใส

| sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |  |
|---------|----|-------------------------|--|
|         |    | 1                       |  |
| G2      | 25 | 5.0800                  |  |
| G1      | 25 | 5.1200                  |  |
| control | 25 | 5.7200                  |  |
| G4      | 25 | 5.8800                  |  |
| G5      | 25 | 5.9600                  |  |
| G3      | 25 | 6.1200                  |  |
| Sig.    |    | .074                    |  |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

คะแนนสี

| sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |        |
|---------|----|-------------------------|--------|
|         |    | 1                       | 2      |
| G1      | 25 | 5.0000                  |        |
| G2      | 25 | 5.0400                  |        |
| control | 25 | 5.6400                  | 5.6400 |
| G3      | 25 | 5.9600                  | 5.9600 |
| G5      | 25 | 6.0000                  | 6.0000 |
| G4      | 25 | 6.1200                  | 6.1200 |
| Sig.    |    | .069                    | .379   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### คะแนนความเปรี้ยว

| sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |        |
|---------|----|-------------------------|--------|
|         |    | 1                       | 2      |
| G4      | 25 | 4.5600                  |        |
| G1      | 25 | 4.7200                  |        |
| G2      | 25 | 5.5600                  | 5.5600 |
| G5      | 25 | 5.6800                  | 5.6800 |
| control | 25 |                         | 6.0400 |
| G3      | 25 |                         | 6.3600 |
| Sig.    |    | .079                    | .214   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

### คะแนนความหวาน

| sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |        |
|---------|----|-------------------------|--------|
|         |    | 1                       | 2      |
| G4      | 25 | 4.8000                  |        |
| G1      | 25 | 5.2800                  | 5.2800 |
| G5      | 25 | 5.6400                  | 5.6400 |
| G2      | 25 | 5.8400                  | 5.8400 |
| control | 25 |                         | 6.0000 |
| G3      | 25 |                         | 6.2000 |
| Sig.    |    | .072                    | .122   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### คะแนนกลมกล่อม

| sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |        |
|---------|----|-------------------------|--------|
|         |    | 1                       | 2      |
| G4      | 25 | 4.6000                  |        |
| G1      | 25 | 5.4800                  | 5.4800 |
| G2      | 25 |                         | 5.7600 |
| G5      | 25 |                         | 6.0400 |
| control | 25 |                         | 6.6400 |
| G3      | 25 |                         | 6.6800 |
| Sig.    |    | .109                    | .050   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

### คะแนนความชอบโดยรวม

| sample  | N  | Subset for alpha = 0.05 |        |        |
|---------|----|-------------------------|--------|--------|
|         |    | 1                       | 2      | 3      |
| G4      | 25 | 4.9600                  |        |        |
| G1      | 25 | 5.4400                  | 5.4400 |        |
| G2      | 25 | 6.0000                  | 6.0000 | 6.0000 |
| G5      | 25 |                         | 6.1600 | 6.1600 |
| control | 25 |                         | 6.5600 | 6.5600 |
| G3      | 25 |                         |        | 6.7200 |
| Sig.    |    | .071                    | .060   | .232   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=25.000.

\*หมายเหตุ

- Control แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 1:0
- G1 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 3:1
- G2 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 2:1
- G3 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 1:1
- G4 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 1:2
- G5 แทนชาดำผสมสมุนไพร ในอัตราส่วน 1:3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๓-4 ค่าพีเอชในคอมบูชาแต่ละชนิด หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 20 วัน

## ANOVA

|    |                | Sum of Squares | df | Mean Square | F       | Sig. |
|----|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| K  | Between Groups | 6.740          | 4  | 1.685       | 54.040  | .000 |
|    | Within Groups  | .312           | 10 | .031        |         |      |
|    | Total          | 7.052          | 14 |             |         |      |
| GG | Between Groups | 4.638          | 4  | 1.159       | 24.877  | .000 |
|    | Within Groups  | .466           | 10 | .047        |         |      |
|    | Total          | 5.104          | 14 |             |         |      |
| KM | Between Groups | 5.314          | 4  | 1.329       | 227.753 | .000 |
|    | Within Groups  | .058           | 10 | .006        |         |      |
|    | Total          | 5.373          | 14 |             |         |      |
| GB | Between Groups | 4.810          | 4  | 1.203       | 374.250 | .000 |
|    | Within Groups  | .032           | 10 | .003        |         |      |
|    | Total          | 4.842          | 14 |             |         |      |

\*หมายเหตุ

- K แทนคอมบูชาดั้งเดิม
- GG แทนชาดำผสมขิง
- KM แทนชาดำผสมสะระแหน่
- GB แทนชาดำผสมเก๋ากี้

ค่าพีเอชของคอมบูชาแบบดั้งเดิม

| Day  | N | Subset for alpha = 0.05 |        |        |        |
|------|---|-------------------------|--------|--------|--------|
|      |   | 1                       | 2      | 3      | 4      |
| D20  | 3 | 2.5533                  |        |        |        |
| D15  | 3 | 2.6500                  | 2.6500 |        |        |
| D10  | 3 |                         | 2.9200 |        |        |
| D5   | 3 |                         |        | 3.4667 |        |
| D0   | 3 |                         |        |        | 4.3733 |
| Sig. |   | .518                    | .091   | 1.000  | 1.000  |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าพีเอชของชาดำผสมขิง

| Day  | N | Subset for alpha = 0.05 |        |        |
|------|---|-------------------------|--------|--------|
|      |   | 1                       | 2      | 3      |
| D20  | 3 | 2.8133                  |        |        |
| D15  | 3 | 2.9933                  |        |        |
| D10  | 3 | 3.2033                  |        |        |
| D5   | 3 |                         | 3.6767 |        |
| D0   | 3 |                         |        | 4.3600 |
| Sig. |   | .060                    | 1.000  | 1.000  |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=3.000.

ค่าพีเอชของชาดำผสมสระแทน

| Day  | N | Subset for alpha = 0.05 |        |        |        |
|------|---|-------------------------|--------|--------|--------|
|      |   | 1                       | 2      | 3      | 4      |
| D20  | 3 | 2.6367                  |        |        |        |
| D15  | 3 | 2.7233                  |        |        |        |
| D10  | 3 |                         | 2.9733 |        |        |
| D5   | 3 |                         |        | 3.4967 |        |
| D0   | 3 |                         |        |        | 4.2433 |
| Sig. |   | .195                    | 1.000  | 1.000  | 1.000  |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ค่าพีเอชของชาดำผสมเก๋ากี้

| Day  | N | Subset for alpha = 0.05 |        |        |        |
|------|---|-------------------------|--------|--------|--------|
|      |   | 1                       | 2      | 3      | 4      |
| D20  | 3 | 2.7600                  |        |        |        |
| D15  | 3 | 2.8300                  |        |        |        |
| D10  | 3 |                         | 3.0767 |        |        |
| D5   | 3 |                         |        | 3.5600 |        |
| D0   | 3 |                         |        |        | 4.2867 |
| Sig. |   | .161                    | 1.000  | 1.000  | 1.000  |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=3.000.

\*หมายเหตุ

- D0 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 0
- D5 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 5
- D10 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 10
- D15 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 15
- D20 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 20



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ฉ-5 ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในคอมบูชาแต่ละชนิด หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

## ANOVA

|    |                | Sum of Squares | df | Mean Square | F       | Sig. |
|----|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| K  | Between Groups | 2.948          | 4  | .737        | 78.668  | .000 |
|    | Within Groups  | .094           | 10 | .009        |         |      |
|    | Total          | 3.042          | 14 |             |         |      |
| GG | Between Groups | 1.328          | 4  | .332        | 12.729  | .001 |
|    | Within Groups  | .261           | 10 | .026        |         |      |
|    | Total          | 1.588          | 14 |             |         |      |
| KM | Between Groups | 4.898          | 4  | 1.224       | 73.814  | .000 |
|    | Within Groups  | .166           | 10 | .017        |         |      |
|    | Total          | 5.064          | 14 |             |         |      |
| GB | Between Groups | 3.032          | 4  | .758        | 121.106 | .000 |
|    | Within Groups  | .063           | 10 | .006        |         |      |
|    | Total          | 3.095          | 14 |             |         |      |

\*หมายเหตุ

- K แทนคอมบูชาดั้งเดิม
- GG แทนชาดำผสมขิง
- KM แทนชาดำผสมสะระแหน่
- GB แทนชาดำผสมเก๋ากี้

ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในคอมบูชาแบบดั้งเดิม

| DAY  | N | Subset for alpha = 0,05 |       |       |        |
|------|---|-------------------------|-------|-------|--------|
|      |   | 1                       | 2     | 3     | 4      |
| D0   | 3 | .0520                   |       |       |        |
| D5   | 3 | .1320                   |       |       |        |
| D10  | 3 |                         | .4200 |       |        |
| D15  | 3 |                         |       | .7560 |        |
| D20  | 3 |                         |       |       | 1.2600 |
| Sig. |   | .335                    | 1.000 | 1.000 | 1.000  |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในคอมบูชาแบบดั้งเดิม

| DAY  | N | Subset for alpha = 0.05 |       |       |
|------|---|-------------------------|-------|-------|
|      |   | 1                       | 2     | 3     |
| D0   | 3 | .0400                   |       |       |
| D5   | 3 | .1120                   |       |       |
| D10  | 3 | .2880                   | .2880 |       |
| D15  | 3 |                         | .4840 |       |
| D20  | 3 |                         |       | .8680 |
| Sig. |   | .102                    | .168  | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=3.000.

ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในชาดำผสมขิง

| DAY  | N | Subset for alpha = 0.05 |       |       |
|------|---|-------------------------|-------|-------|
|      |   | 1                       | 2     | 3     |
| D0   | 3 | .0400                   |       |       |
| D5   | 3 | .1120                   |       |       |
| D10  | 3 | .2880                   | .2880 |       |
| D15  | 3 |                         | .4840 |       |
| D20  | 3 |                         |       | .8680 |
| Sig. |   | .102                    | .168  | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในชาดำผสมสระแทน**

| DAY  | N | Subset for alpha = 0.05 |       |        |        |
|------|---|-------------------------|-------|--------|--------|
|      |   | 1                       | 2     | 3      | 4      |
| D0   | 3 | .0600                   |       |        |        |
| D5   | 3 | .1960                   |       |        |        |
| D10  | 3 |                         | .6680 |        |        |
| D15  | 3 |                         |       | 1.0920 |        |
| D20  | 3 |                         |       |        | 1.6040 |
| Sig. |   | .225                    | 1.000 | 1.000  | 1.000  |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=3.000.

**ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในชาดำผสมเก๋ากี้**

| DAY  | N | Subset for alpha = 0.05 |       |       |        |
|------|---|-------------------------|-------|-------|--------|
|      |   | 1                       | 2     | 3     | 4      |
| D0   | 3 | .0760                   |       |       |        |
| D5   | 3 | .2080                   |       |       |        |
| D10  | 3 |                         | .6040 |       |        |
| D15  | 3 |                         |       | .9880 |        |
| D20  | 3 |                         |       |       | 1.2600 |
| Sig. |   | .068                    | 1.000 | 1.000 | 1.000  |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=3.000.

\*หมายเหตุ

- D0 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 0
- D5 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 5
- D10 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 10
- D15 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 15
- D20 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑-5 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในคอมบูชาแต่ละชนิด หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

## ANOVA

|    |                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|----|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| K  | Between Groups | 1.049          | 4  | .262        | 1.189 | .373 |
|    | Within Groups  | 2.207          | 10 | .221        |       |      |
|    | Total          | 3.256          | 14 |             |       |      |
| GG | Between Groups | 1.471          | 4  | .368        | 9.041 | .002 |
|    | Within Groups  | .407           | 10 | .041        |       |      |
|    | Total          | 1.877          | 14 |             |       |      |
| KM | Between Groups | 7.963          | 4  | 1.991       | 3.448 | .051 |
|    | Within Groups  | 5.773          | 10 | .577        |       |      |
|    | Total          | 13.736         | 14 |             |       |      |
| GB | Between Groups | 4.953          | 4  | 1.238       | 2.991 | .073 |
|    | Within Groups  | 4.140          | 10 | .414        |       |      |
|    | Total          | 9.093          | 14 |             |       |      |

\*หมายเหตุ

- K แทนคอมบูชาดั้งเดิม
- GG แทนชาดำผสมขิง
- KM แทนชาดำผสมสระแหน่
- GB แทนชาดำผสมเก๋ากี้

ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในคอมบูชาแบบดั้งเดิม

| DAY  | N | Subset for alpha = 0.05 |
|------|---|-------------------------|
|      |   | 1                       |
| D20  | 3 | 11.7333                 |
| D15  | 3 | 11.7667                 |
| D10  | 3 | 12.0667                 |
| D0   | 3 | 12.2000                 |
| D5   | 3 | 12.4333                 |
| Sig. |   | .124                    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในชาหมักผสมขิง

| DAY  | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |
|------|---|-------------------------|---------|---------|
|      |   | 1                       | 2       | 3       |
| D20  | 3 | 9.4333                  |         |         |
| D15  | 3 |                         | 9.8667  |         |
| D10  | 3 |                         | 9.9667  |         |
| D5   | 3 |                         | 10.0667 | 10.0667 |
| D0   | 3 |                         |         | 10.4000 |
| Sig. |   | 1.000                   | .273    | .070    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=3.000.

ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในชาหมักผสมสะระแหน่

| DAY  | N | Subset for alpha = 0.05 |         |
|------|---|-------------------------|---------|
|      |   | 1                       | 2       |
| D20  | 3 | 11.2000                 |         |
| D15  | 3 | 11.9333                 | 11.9333 |
| D10  | 3 | 12.0000                 | 12.0000 |
| D5   | 3 |                         | 13.0667 |
| D0   | 3 |                         | 13.1000 |
| Sig. |   | .246                    | .110    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในชาหมักผสมเก๋ากี้

| DAY  | N | Subset for alpha = 0.05 |         |
|------|---|-------------------------|---------|
|      |   | 1                       | 2       |
| D20  | 3 | 10.9333                 |         |
| D0   | 3 | 11.3333                 |         |
| D10  | 3 | 11.7000                 | 11.7000 |
| D15  | 3 | 11.7000                 | 11.7000 |
| D5   | 3 |                         | 12.6667 |
| Sig. |   | .203                    | .109    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=3.000.

\*หมายเหตุ

- D0 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 0
- D5 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 5
- D10 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 10
- D15 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 15
- D20 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 20



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๘-6 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในคอมบูชาแต่ละชนิดในวันที่ 0-20 ของการหมัก

## ANOVA

|    |                | Sum of Squares | df | Mean Square | F       | Sig. |
|----|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| K  | Between Groups | 2213.051       | 4  | 553.263     | 230.806 | .000 |
|    | Within Groups  | 203.753        | 85 | 2.397       |         |      |
|    | Total          | 2416.804       | 89 |             |         |      |
| GG | Between Groups | 3387.697       | 4  | 846.924     | 82.038  | .000 |
|    | Within Groups  | 877.498        | 85 | 10.324      |         |      |
|    | Total          | 4265.195       | 89 |             |         |      |
| KM | Between Groups | 4321.698       | 4  | 1080.425    | 577.719 | .000 |
|    | Within Groups  | 158.963        | 85 | 1.870       |         |      |
|    | Total          | 4480.661       | 89 |             |         |      |
| GB | Between Groups | 2845.856       | 4  | 711.464     | 108.649 | .000 |
|    | Within Groups  | 556.606        | 85 | 6.548       |         |      |
|    | Total          | 3402.461       | 89 |             |         |      |

\*หมายเหตุ

- K แทนคอมบูชาดั้งเดิม
- GG แทนชาดำผสมขิง
- KM แทนชาดำผสมสะระแหน่
- GB แทนชาดำผสมเก๋ากี้

ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในคอมบูชาแบบดั้งเดิม

| sample | N  | Subset for alpha = 0.05 |         |         |         |         |
|--------|----|-------------------------|---------|---------|---------|---------|
|        |    | 1                       | 2       | 3       | 4       | 5       |
| D0     | 18 | 73.6274                 |         |         |         |         |
| D5     | 18 |                         | 76.6367 |         |         |         |
| D10    | 18 |                         |         | 83.0549 |         |         |
| D15    | 18 |                         |         |         | 85.2054 |         |
| D20    | 18 |                         |         |         |         | 86.2588 |
| Sig.   |    | 1.000                   | 1.000   | 1.000   | 1.000   | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=18.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในชาดำผสมขิง

| sample | N  | Subset for alpha = 0.05 |         |         |
|--------|----|-------------------------|---------|---------|
|        |    | 1                       | 2       | 3       |
| D0     | 18 | 71.8639                 |         |         |
| D5     | 18 |                         | 78.6609 |         |
| D15    | 18 |                         |         | 86.7422 |
| D10    | 18 |                         |         | 86.8994 |
| D20    | 18 |                         |         | 87.3161 |
| Sig.   |    | 1.000                   | 1.000   | .618    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=18.000.

### ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในชาดำผสมสะระแหน่

| sample | N  | Subset for alpha = 0.05 |         |         |         |
|--------|----|-------------------------|---------|---------|---------|
|        |    | 1                       | 2       | 3       | 4       |
| D0     | 18 | 69.6456                 |         |         |         |
| D5     | 18 |                         | 83.7678 |         |         |
| D10    | 18 |                         | 84.1800 |         |         |
| D15    | 18 |                         |         | 85.3878 |         |
| D20    | 18 |                         |         |         | 90.3892 |
| Sig.   |    | 1.000                   | .368    | 1.000   | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=18.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในชาดำผสมเก๋ากี้

| sample | N  | Subset for alpha = 0.05 |         |         |         |
|--------|----|-------------------------|---------|---------|---------|
|        |    | 1                       | 2       | 3       | 4       |
| D0     | 18 | 73.9578                 |         |         |         |
| D5     | 18 |                         | 79.5072 |         |         |
| D10    | 18 |                         |         | 85.8344 |         |
| D15    | 18 |                         |         | 86.6283 |         |
| D20    | 18 |                         |         |         | 89.5567 |
| Sig.   |    | 1.000                   | 1.000   | .355    | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=18.000.

\*หมายเหตุ

- D0 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 0
- D5 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 5
- D10 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 10
- D15 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 15
- D20 แทนระยะเวลาการหมักวันที่ 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๗-7 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในคอมบูชาแต่ละชนิดก่อนและหลังปรับปรุงรสชาติในวันที่ 20 ของการหมัก

## ANOVA

|        |                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|--------|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| before | Between Groups | 38.187         | 3  | 12.729      | 14.081 | .000 |
|        | Within Groups  | 18.080         | 20 | .904        |        |      |
|        | Total          | 56.267         | 23 |             |        |      |
| after  | Between Groups | 50.381         | 3  | 16.794      | 11.124 | .000 |
|        | Within Groups  | 30.193         | 20 | 1.510       |        |      |
|        | Total          | 80.574         | 23 |             |        |      |

\*หมายเหตุ

- before แทนคอมบูชาแบบดั้งเดิมและชาดำผสมสมุนไพรก่อนปรับปรุงรสชาติ
- after แทนคอมบูชาแบบดั้งเดิมและชาดำผสมสมุนไพรหลังปรับปรุงรสชาติ

ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในคอมบูชาแบบดั้งเดิมและชาดำผสมสมุนไพรก่อนการปรับปรุงรสชาติ

| Sample | N | Subset for alpha = 0.05 |         |
|--------|---|-------------------------|---------|
|        |   | 1                       | 2       |
| GG     | 6 | 86.3645                 |         |
| K      | 6 | 86.9246                 |         |
| GB     | 6 |                         | 88.6739 |
| KM     | 6 |                         | 89.4695 |
| Sig.   |   | .320                    | .163    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=6.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในคอมบูชาแบบดั้งเดิมและชาดำผสมสมุนไพรหลังการปรับปรุงรสชาติ

| Sample | N | Subset for alpha = 0.05 |         |
|--------|---|-------------------------|---------|
|        |   | 1                       | 2       |
| K      | 6 | 82.4834                 |         |
| KM     | 6 | 82.8576                 |         |
| GB     | 6 |                         | 84.9029 |
| GG     | 6 |                         | 85.9978 |
| Sig.   |   | .604                    | .138    |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size=6.000.

\*หมายเหตุ

- K แทนคอมบูชาดั้งเดิม
- GG แทนชาดำผสมขิง
- KM แทนชาดำผสมสะระแหน่
- GB แทนชาดำผสมเก๋ากี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้