ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของเครื่องดื่มคอมบูชาที่เตรียมจากใบและก้านของกัญชง

Antioxidant and antibacterial activity of kombucha beverages prepared using leaf and branch of hemp

กนกพร ปิ่นรัตน์

จินตพร เปลี่ยนประเสริฐ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปีการศึกษา 2565

ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF KOMBUCHA BEVERAGES PREPARED USING LEAF AND BRANCH OF HEMP

KANOKPORN PINRAT

JINTAPHORN PLIANPRASERT

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของเครื่องดื่มคอมบูชาที่เตรียมจากใบและก้านของกัญชง Antioxidant and antibacterial activity of kombucha Beverages prepared using leaf and branch of hemp
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกนกพร ปิ่นรัตน์ รหัสนักศึกษา 62050564 นางสาวจินตพร เปลี่ยนประเสริฐ รหัสนักศึกษา 62050868
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2565

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ กรรมการ	
รศ.ดวงใจ โอชัยกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของเครื่องดื่มคอมบูชาที่เตรียมจากใบและก้านของกัญชง
Antioxidant and antibacterial activity of kombucha beverages prepared using leaf and branch of hemp

ชื่อนักศึกษา นางสาวกนกพร ปิ่นรัตน์ รหัสนักศึกษา 62050564
นางสาวจินตพร เปลี่ยนประเสริฐ รหัสนักศึกษา 62050868

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2565

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

บทคัดย่อ

คอมบูชาเป็นเครื่องดื่มสุขภาพ เกิดจากการหมักร่วมกันของแบคทีเรียอะซิติกและยีสต์ ที่เรียกว่า SCOBY โครงงานพิเศษนี้ใช้กัญชงใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมักคอมบูชา ซึ่งกัญชงเป็นพืชที่กำลังได้รับความสนใจเนื่องจากเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและนำมาทำผลิตภัณฑ์ทางการค้าได้หลายชนิด เช่น สิ่งทอเยื่อใย กระดาษ น้ำมันหอมระเหย อาหาร ยา เครื่องสำอาง และเป็นวัสดุก่อสร้าง โครงงานพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์ศึกษาศักยภาพในการนำใบและก้านกัญชงมาใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักคอมบูชา เครื่องดื่มคอมบูชาหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน ศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีของคอมบูชา ฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และการทดสอบทางประสาทสัมผัส ผลการทดลองพบว่าคอมบูชาจากใบกัญชงที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียได้สูงสุดโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ 10.08±0.57 - 12.57±0.38 มิลลิเมตร รองลงมาเป็นคอมบูชาจากชาอู่หลง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า คอมบูชาจากชาอู่หลงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับร้อยละ 99.94±0.05 คอมบูชาจากใบกัญชงและคอมบูชาจากก้านกัญชงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 89.65±0.48 และ 69.31±0.80 ตามลำดับ จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-Point Hedonic Scale พบว่าคอมบูชาในอัตราส่วน 1:2.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ได้รับคะแนนสูงสุด คอมบูชาจากชาอู่หลงได้รับคะแนนสูงสุดรองลงมาเป็นคอมบูชาจากก้านกัญชง และคอมบูชาจากใบกัญชง ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำสำคัญ : คอมบูชา กัญชง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ทดสอบทางประสาทสัมผัส

Title Antioxidant and antibacterial activity of kombucha beverages prepared using leaf and branch of hemp

Students Miss Kanokporn Pinrat Student ID 62050564

Miss Jintaphorn Plianprasert Student ID 62050868

Degree Bachelor of Science (Industrial Microbiology)

Department Biology

School Science

University King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)

Academic Year 2022

Advisor Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul

Abstract

Kombucha is a healthy beverage made from a symbiotic culture of acetic acid bacteria and yeasts, known as SCOBY. In this special project, hemp was used as a raw kombucha fermentation substrate. Hemp has garnered global attention due to its rapid growth and extensive use in various commercial products, such as textiles, paper, essential oils, food, medicine, cosmetics, and construction materials. This project aimed to investigate the potential of kombucha fermentation using hemp leaves and branches. The kombucha beverages were fermented at room temperature for 14 days. The study aimed to assess the biochemical activity of kombucha, including the antibacterial activity of kombucha beverages prepared from hemp leaves and branches, as well as their antioxidant activity and sensory attributes. The results revealed that hemp leaf kombucha exhibited the highest antibacterial activity, with inhibition zones ranging from 10.08±0.57 to 12.57±0.38 millimeters in diameter. This was followed by oolong tea kombucha and hemp branch kombucha, which displayed inhibition zones ranging from 7.66±1.45 to 9.33±2.08 and 6.00±0.00 millimeters in diameter, respectively. Antioxidant activity was determined using the DPPH method, wherein oolong tea kombucha demonstrated the highest antioxidant activity at 99.94±0.05. Hemp leaf kombucha and hemp branch kombucha exhibited antioxidant activities of 89.65±0.48 and 69.51±0.80, respectively. Furthermore, a sensory test was

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

conducted using the 9-Point Hedonic Scale method to evaluate overall acceptability. The kombucha, with a ratio of 1:2.5 (v/v), received the highest score, with oolong tea kombucha ranking as the most preferred, followed by hemp branch kombucha and hemp leaf kombucha, respectively.

Keywords : Kombucha, Hemp, Antioxidant activity, Antibacterial activity, Sensory test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้ไม่สามารถเสร็จสมบูรณ์ได้ หากไม่ได้รับความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่าน ได้แก่ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล บุคคลแรกที่ต้องกล่าวขอบพระคุณเป็นอย่างสูง คอยให้คำแนะนำด้านการทดลองและชี้แนวทางในการแก้ปัญหา ทำให้โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ดี นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล และ ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือพิจารณาโครงงานพิเศษ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ธุรการและเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่คอยอำนวยความสะดวกประสานงานให้ความช่วยเหลือการเบิกจ่ายอุปกรณ์และสารเคมีแก่ผู้วิจัย ขอขอบพระคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ และทุกๆคนที่มีส่วนร่วมในการให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษในครั้งนี้ และที่สำคัญของผู้วิจัยกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่ให้กำลังใจเป็นแรงผลักดันตลอดมา ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

กนกพร ปิ่นรัตน์

จินตพร เปลี่ยนประเสริฐ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... ก

Abstract ..... ข

กิตติกรรมประกาศ ..... ง

สารบัญ ..... จ

สารบัญตาราง ..... ช

สารบัญรูป ..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 คอมบูชา (Kombucha) 3

2.2 กระบวนการหมักคอมบูชา 4

2.3 จุลินทรีย์ที่พบในการหมักคอมบูชา 4

2.3.1 แบคทีเรียอะซิติก 4

2.3.2 ยีสต์ (Yeast) 6

2.4 วัตถุดิบในกระบวนการหมักคอมบูชา 7

2.4.1 น้ำตาลซูโครสหรือน้ำตาลทราย 7

2.4.2 กัญชง 7

2.5 เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค 10

2.5.1 จุลินทรีย์ก่อโรค 10

2.6 วิธีการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค 13

2.6.1 Agar Disc Diffusion 13

2.6.2 Agar well Diffusion 13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น รวมถึงห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 13

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 15

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี 15

3.1.1 วัตถุดิบ 15

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 15

3.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์ 16

3.2 ขั้นตอนในการดำเนินงาน 17

3.2.1 การเตรียมใบและก้านใบกัญชง 17

3.2.2 การหมักคอมบูชาด้วยเชื้อ *Saccharomyces boulardii* และ *Acetobacter pasteurianus* AJ 605 18

3.2.3 กระบวนการหมักคอมบูชา 18

3.2.4 การวิเคราะห์ 19

3.2.5 ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค 21

3.2.6 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส 21

3.2.7 การวางแผนการทดลองทางสถิติ 22

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 23

4.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง ใบกัญชง 23

4.1.1 ค่าความเป็นกรด-เบสของคอมบูชาโดยใช้ pH meter 23

4.1.2 ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) 24

4.1.3 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 26

4.1.4 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 27

4.1.5 การวิเคราะห์กิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH 29

4.2 ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และ ใบกัญชง ... 30

4.3 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง 33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 37

5.1 สรุปผลการวิจัย 37

5.2 ข้อเสนอแนะ 38

เอกสารอ้างอิง 39

ภาคผนวก 43

ภาคผนวก ก 44

ภาคผนวก ข 46

ภาคผนวก ค 47

ภาคผนวก ง 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ค่าความเป็นกรด-เบสของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน 23
4.2 ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) ในคอมบูชาแต่ละชนิดระหว่างกระบวนการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน 25
4.3 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน 26
4.4 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน 28
4.5 ค่าการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน 30
4.6 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในคอมบูชาแต่ละชนิด 31
4.7 ทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากชาอู่หลงที่ผ่านการปรับปรุงรสชาติด้วยการผสมน้ำชาอู่หลงในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 33
4.8 ทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากก้านกัญชงที่ผ่านการปรับปรุงรสชาติด้วยการผสมน้ำก้านใบกัญชงในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 34
4.9 คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากใบกัญชงที่ผ่านการปรับปรุงรสชาติด้วยการผสมน้ำใบกัญชงในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 35
4.10 การทดสอบประสาทสัมผัสของคอมบูชาชนิดต่างๆที่ผ่านการปรับปรุงรสชาติในอัตราส่วนที่ผู้ทดสอบยอมรับ 36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 กระบวนการหมักคอมบูชา 4
2.2 แสดงลักษณะของเชื้อ *Acetobacter pasteurianus* 5
2.3 แสดงลักษณะของเชื้อ *Saccharomyces boulardii* 6
2.4 สูตรโครงสร้างน้ำตาลซูโครส 7
2.5 ฟลาโวนอยด์ที่พบในกัญชง 8
2.6 สติลบินอยด์จากกัญชง 9
2.7 ลิกแนนที่อยู่ในกัญชง 9
2.8 แสดงลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli* 10
2.9 แสดงลักษณะของเชื้อ *Micrococcus luteus* 11
2.10 แสดงลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* 12
2.11 แสดงลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus* 12
4.1 ค่าความเป็นกรด-เบสของคอมบูชาแต่ละชนิดในการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน 24
4.2 ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) ของคอมบูชาในการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน 25
4.3 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร) ของคอมบูชาแต่ละชนิดในการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน 27
4.4 การเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในการหมักคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน 28
4.5 ค่าการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน 30
4.6 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในคอมบูชาจากชาอู่หลง ใบกัญชง และก้านกัญชง หมักเป็นเวลา 14 วัน (1 : น้ำชาอู่หลง 2 : น้ำก้านกัญชง 3 : น้ำใบกัญชง 4 : ชาอู่หลงหมัก 14 วัน 5 : ก้านกัญชงหมัก 14 วัน 6 : ใบกัญชงหมัก 14 วัน 7: ยาปฏิชีวนะ) 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

คอมบูชา (Kombucha) หรือชาหมักคอมบูชา คือ น้ำหมักจากชาดำหรือชาเขียว กับหัวเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งคอมบูชาประกอบด้วยกระบวนการผลิตสองส่วนหลัก คือ 1) ส่วนของหัวเชื้อจุลินทรีย์ หรือที่มักเรียกกันว่า 'SCOBY' (a Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) และ 2) ส่วนของน้ำชา คอมบูชามีทั้งโพรไบโอติก ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระ กรดอะซิติก วิตามิน นอกจากนี้คอมบูชายังช่วยปรับสมดุลลำไส้ เสริมภูมิคุ้มกัน มีสารต้านอนุมูลอิสระสูง มีผลช่วยลดความเสี่ยงโรคหัวใจ และมีผลดีต่อสุขภาพจิตอีกด้วย(Jakubczyk et al., 2020)

กัญชง (Hemp) มีชื่อทางพฤกษศาสตร์เดียวกับกัญชา คือ *Cannabis sativa* L. โดยมีต้นกำเนิดเดียวกัน จัดเป็นพืชดั้งเดิมที่อยู่ทางเขตอบอุ่นของทวีปเอเชีย พืชชนิดนี้เติบโตง่ายไม่ต้องการน้ำมาก เติบโตได้ดีทุกสภาพอุณหภูมิ โดยลักษณะของลำต้นจะมีความสูงมากกว่า 2 เมตร แตกกิ่งน้อย ข้อเป็นปล้อง ผลที่เป็นเมล็ดมีรูปร่างไข่ ดอกออกเป็นช่อตามปลายยอดและซอกใบ มีใบสีเขียวอ่อนหรืออมเหลือง ใบมีขนาดใหญ่ แตกแฉก 7-9 แฉก ใบและช่อดอกตัวเมียมีกลิ่นหอม ดอกจะมียางเหนียวน้อยกว่ากัญชา ในประเทศไทยจะใช้ประโยชน์จากเปลือกของลำต้นโดยนำไปใช้เป็นเส้นใยและแกนที่เหลือจะนำไปผลิตเป็นวัสดุก่อสร้างตกแต่งอาคาร เช่น เฮมพ์บล็อก เฮมพ์กรีต เสา หลังคา พาติเคิลบอร์ด และฉนวนกันความร้อน สำหรับใบก็สามารถนำไปใช้ทำประโยชน์ได้หลายอย่าง ตั้งแต่เป็นอาหาร ยารักษาโรค เครื่องสำอาง รวมไปถึงการนำใบมาเป็นชาเพื่อสุขภาพ นำมาเป็นผงผสมกับสารอาหารอื่น ๆ เพื่อผลิตเป็นอาหารเสริม ผลิตเป็นอาหารโดยตรงอย่างเส้นพาสต้า คุกกี้ หรือขนมปัง ใช้ทำเบียร์ ไวน์ ซอสจิ้มอาหารต่าง ๆ และยังใช้ประโยชน์โดยนำมาสกัดเป็นน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางที่มีคุณสมบัติช่วยดูแลผิวพรรณ ทำให้ผิวชุ่มชื้น เหมาะกับผิวแพ้ง่าย ผิวบอบบาง (ปวีณา ยะปัญญา, 2019)

กัญชงมีประโยชน์ เช่น ทำให้นอนหลับได้ง่ายขึ้น เกิดอาการเคลิ้มฝัน ระงับอาการเจ็บปวด ช่วยยับยั้งการจับตัวของเกร็ดเลือด เพราะมีสาร CBD (Cannabidiol) ซึ่งมีสรรพคุณเป็นยาแก้อักเสบหรือยาปฏิชีวนะ แม้ว่ากัญชงจะมีสาร Tetrahydrocannabinol (THC) เหมือนกับกัญชา แต่เมื่อเปรียบเทียบด้านปริมาณแล้วมีน้อยกว่าร้อยละ 0.3 หรืออาจจะไม่มีเลยก็ได้ จึงช่วยเสริมความเคลิบเคลิ้ม ผ่อนคลายมากขึ้น รวมถึงสารสกัดจากดอกของกัญชง ที่อุดมไปด้วยสาร CBD ถูกนำมาใช้ในการบรรเทาอาการต่างๆ เช่น ลดการอักเสบ รักษาโรคเกาต์ หรือเจ็บปวดข้อกระดูก บรรเทา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาการคลื่นไส้อาเจียน และนำไปใช้รักษาโรคต่างๆ เช่น โรคลมบ้าหมู โรควิตกกังวล โรคอัลไซเมอร์ เป็นต้น (Rocca and Salvo, 2020)

การผลิตคอมบูชาจากส่วนต่างๆของกัญชง โครงงานพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะนำใบและก้านของกัญชงใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมักคอมบูชา เพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มคอมบูชาเพื่อสุขภาพ และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค รวมทั้งมีรสชาติเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.เพื่อศึกษาศักยภาพในการนำใบและก้านกัญชงมาใช้ในการหมักคอมบูชา เพื่อผลิตเป็นเครื่องดื่มสุขภาพที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย

2.เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งการเจริญแบคทีเรียก่อโรคของคอมบูชาที่เตรียมได้จากใบและก้านกัญชง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

หมักคอมบูชาจากใบและก้านของกัญชงและชาอู่หลง หมักเป็นเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างวันที่ 0 และวันที่ 14 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เช่น ค่าความเป็นกรด-เบส ปริมาณกรดทั้งหมด(ร้อยละกรดอะซิติก) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH รวมทั้งฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.สามารถนำใบและก้านกัญชงมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มคอมบูชาที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย

2.ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระรวมทั้งฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคของคอมบูชาที่ผลิตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

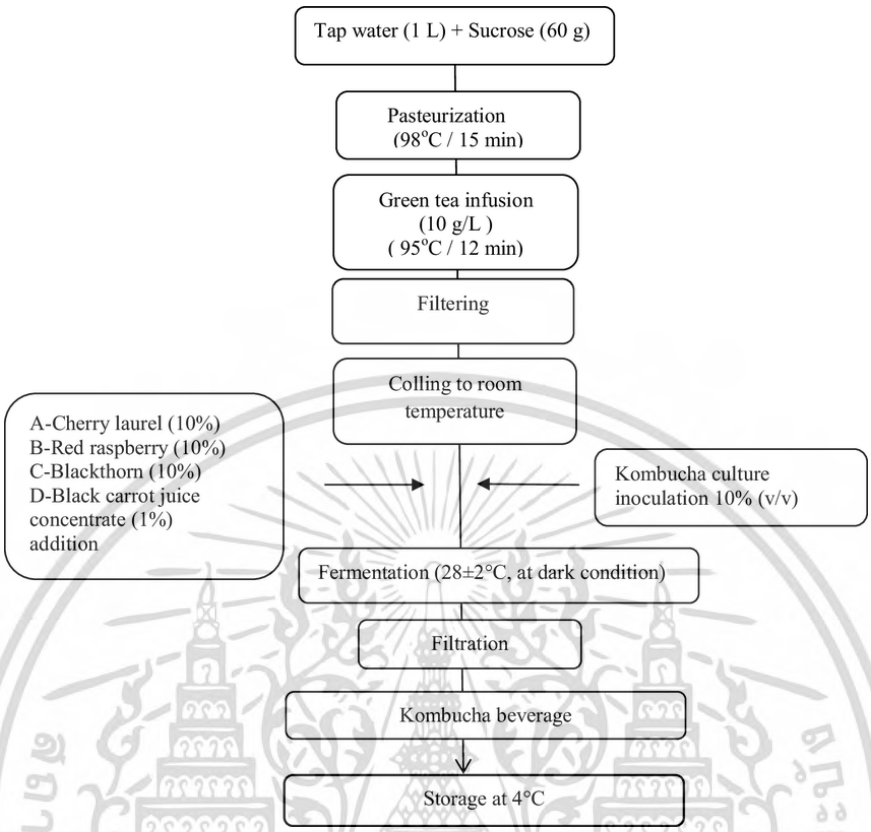
บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 คอมบูชา (Kombucha)

ปัจจุบันนี้ผู้บริโภคให้ความสนใจกับอาหารเพื่อสุขภาพเพิ่มมากขึ้น (Liu et al., 2021 and Marsola et al., 2021) คอมบูชา เป็นชาหมักที่มีการบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั่วโลกเนื่องจากส่วนผสมของสารพฤกษเคมี สารเมตาบอไลต์ และจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (da Silva et al., 2021, de Noronha et al., 2022, Nyiew et al., 2022) คอมบูชาหรือชาหมัก เป็นเครื่องดื่มชาหมักเพื่อสุขภาพที่มีรสเปรี้ยวอมหวาน ดื่มแล้วให้ความสดชื่นแก่ร่างกาย โดยใช้ชาและน้ำตาลเป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมัก ซึ่งกระบวนการหมักจะเกิดขึ้นในสภาวะที่มีการใช้ออกซิเจน อาศัยเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำงานร่วมกันสองชนิดประกอบด้วยแบคทีเรียกรดอะซิติกและยีสต์ (Dufresne and Farnworth, 2000) ส่วนใหญ่ใช้ชาเขียวหรือชาดำเป็นวัตถุดิบ การหมักคอมบูชาจะมีกระบวนการหมักประมาณ 7-14 วัน (Valenzuela et al., 2018) เครื่องดื่มคอมบูชาเป็นที่นิยมบริโภคในหลายประเทศ เช่น จีน รัสเซีย เยอรมนี และตะวันออกกลางด้วย (Lynch et al., 2019) การดื่มชาหมักชนิดนี้จะมีผลดีต่อสุขภาพและช่วยรักษาโรคต่างได้ มีสารต้านอนุมูลอิสระที่สูง เพิ่มภูมิต้านทาน และป้องกันโรค ช่วยให้ระบบย่อยอาหารทำงานได้ดีขึ้น ช่วยลดโอกาสในการเกิดมะเร็ง ป้องกันการเกิดไขข้ออักเสบ ช่วยล้างสารพิษในเลือดและระบบย่อยอาหาร ส่งเสริมการทำงานของตับ (Roche, 1998) รวมทั้งช่วยลดระดับคลอเรสเตอรอลในเลือดได้อีกด้วย (Yang et al., 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 กระบวนการหมักคอมบูชา



รูปที่ 2.1 กระบวนการหมักคอมบูชา

ที่มา : https://www.researchgate.net/figure/Kombucha-beverage-production-flow-chart_fig1_331084476 (13 มิถุนายน 2566)

2.3 จุลินทรีย์ที่พบในการหมักคอมบูชา

2.3.1 แบคทีเรียอะซิติก

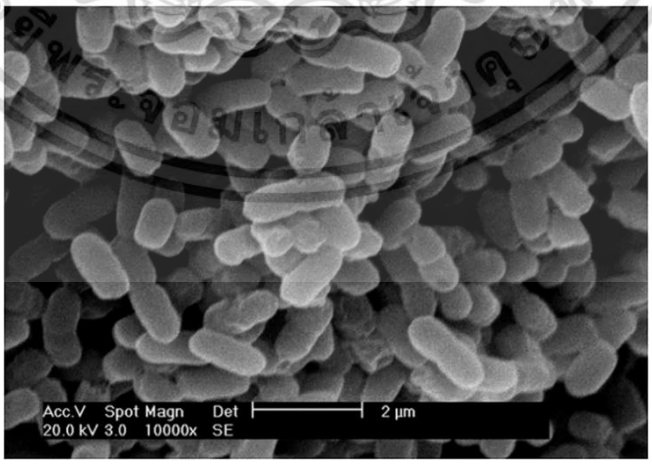
เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งอยู่ในตระกูล Acetobacteraceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแท่งทั้งแบบมีแฟลกเจลลา และไม่มีแฟลกเจลลา เติบโตได้เฉพาะในสภาวะที่มีออกซิเจน (Aerobic bacteria) และทนทานต่อสภาวะความเป็นกรดได้ดีในสภาพที่มี pH ต่ำกว่า 5.0 Family Acetobacteraceae จำแนกออกเป็น 12 สกุล ดังนี้ *Acetobacter, Gluconobacter, Acidomonas, Gluconacetobacter, Asaia, Kozakia, Swaminathania, Saccharibacter, Neoasaia, Granulibacter, Tanticharoenia* และ *Ameyamaea* (Sengun and Karabiyikli., 2011) โดยแบคทีเรียอะซิติกมีคุณสมบัติในการผลิตกรดอะซิติกจากแอลกอฮอล์ โดยทั่วไปนำมาใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู คอมบูชา และใช้ในการถนอมอาหาร เป็นต้น (วันเชิญ โพธาเจริญ และคณะ, 2550) แบคทีเรียชนิดนี้ยังเป็นส่วนสำคัญในการผลิตเครื่องดื่มบำรุงกำลังและรักษาสุขภาพ ซึ่งเป็นเครื่องดื่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้ง

สุขภาพที่แพร่หลายในจีน ญี่ปุ่น และอินเดียมากกว่า 1,000 ปีก่อนคริสตกาล (Kerster et al., 2006) ภายหลังมีการศึกษาองค์ประกอบของเครื่องดื่มชนิดนี้พบว่ามีกรดและวิตามินหลายชนิดที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น กรดอะซิติก กรดแลคติก กรดมาลิก กรดออกซาลิก กรดกลูโคนิก กรดอะมิโน วิตามิน B และวิตามิน C (Mohamed et al., 2015) จึงได้รับความนิยมทั่วไปทั้งในยุโรป สหรัฐอเมริกาและเอเชีย แบคทีเรียอะซิติกที่มีความสามารถในการหมักคอมบูชา ได้แก่ *Acetobacter xylinum, A. xylinoides, A. pausterianus, A. aceti* (Liu et al., 2012)แบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารและเทคโนโลยีชีวภาพอีกหลายด้าน เช่น ผลิตเซลลูโลส (Cellulose) ผลิตน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) สามารถผลิตกรดไกลโคลิก (glycolic acid) เป็นสารที่ใช้ในอุตสาหกรรมซักฟอกผ้าและเครื่องหนังรวมทั้งเป็นส่วนประกอบในการผลิตเครื่องสำอาง(Sengun and Karabiyikli, 2011)

2.3.1.1 *Acetobacter pasteurianus*

Acetobacter pasteurianus เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะรูปร่างเป็นรูปไข่ท่อนตรงหรือโค้งเล็กน้อย เป็นได้ทั้งเซลล์เดี่ยว เป็นแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนในการหมัก *A. pasteurianus* ชอบเจริญเติบโตที่ pH 5.5-6.3 และที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส แหล่งที่สามารถพบแบคทีเรียกรดอะซิติก สามารถพบได้ในธรรมชาติที่มีสภาพเป็นความเป็นกรดและมีปริมาณน้ำตาลหรือปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูง เช่น ผลไม้จาก พวกองุ่น แอปเปิ้ล สับปะรด เงาะ มะม่วง ลิ้นจี่ ลำไย มะเฟือง มะนาว ละมุด ลูกพลับ สตรอเบอร์รี่ เบียร์ ไวน์ น้ำส้มสายชู คอมบูชา น้ำผลไม้รสเปรี้ยว และน้ำผึ้ง (Dufresne and Farnworth, 2000, Goh et al., 2012) และ *A. pasteurianus* สามารถผลิต D-saccharic acid-1,4-lactone (DSL) ซึ่งสามารถลดระดับคอเรลเตอรอลในเส้นเลือดได้ (Yang et al., 2009) และยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ β- glucuronidase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เป็นสาเหตุในการกระตุ้นให้เกิดมะเร็งลำไส้



รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะของเชื้อ *Acetobacter pasteurianus*

ที่มา : https://www.researchgate.net/publication (16 พฤศจิกายน 2565)

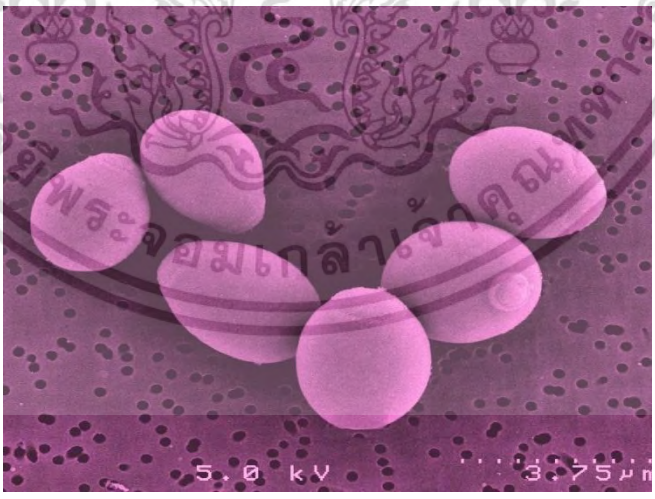
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ยีสต์ (Yeast)

ยีสต์เป็นยูคาริโอตเซลล์เดียวที่จัดอยู่ในอาณาจักรของเชื้อรา โดยทั่วไปเป็นเซลล์เดี่ยว รูปร่างกลม รูปไข่ หรือเหมือนผลเลมอนมีขนาดตั้งแต่ 5 ถึง 10 μm (Stone, 2006) มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย ส่วนใหญ่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหน่อ เซลล์ยีสต์ประกอบด้วยสองส่วนหลักๆ คือ ผนังเซลล์และส่วนประกอบภายในเซลล์ยีสต์ มีอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ในน้ำ ดิน แมลง หรือกระเพาะสัตว์บางชนิดก็สามารถพบยีสต์บางชนิดได้ และมักแยกได้จากแหล่งที่มีน้ำตาลสูง เช่น ผลไม้ ผลเบอร์รี่ และสารหลั่งจากพืช (Rao et al., 2008, Tikka et al., 2013) มีการนำยีสต์มาใช้ประโยชน์ในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ เป็นต้น (Jarrell et al., 2000) ยีสต์ที่มีความสามารถในการหมักคอมบูชา ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces boulardii, Saccharomycodes ludwigii, Schizosaccharomyces pombe* และ *Zygosaccharomyces rouxii* (Jayabalan et al., 2014)

2.3.2.1 *Saccharomyces boulardii*

Saccharomyces boulardii เป็นยีสต์ที่พบในเขตร้อนชื้น มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ โคโลนีสีน้ำตาลครีม ผิวเรียบ แบนราบติดผิวอาหาร สามารถหมักคาร์โบไฮเดรตได้หลายชนิด *S. boulardii* มีคุณสมบัติที่ทนความร้อน และเจริญที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีที่สภาพเป็นกรดต่ำ สามารถผลิตกรดแลคติกรวมทั้งยังไม่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ประจำถิ่นในทางเดินอาหารและลำไส้ (Elmer and McFarland, 2001) เมื่อนำเชื้อ *S. boulardii* มาผลิตโยเกิร์ตร่วมกับแบคทีเรียแลคติกทำให้ได้คุณค่าทางอาหารที่มากขึ้น (Costalos et al., 2003)



รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะของเชื้อ *Saccharomyces boulardii*

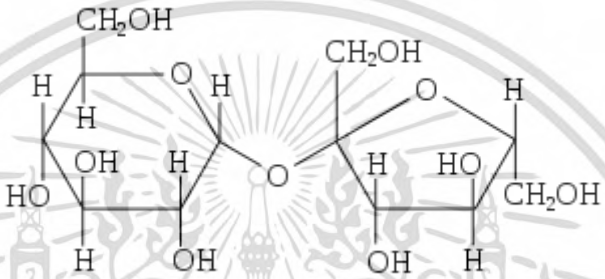
ที่มา : https://www.researchgate.net/publication (16 พฤศจิกายน 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 วัตถุดิบในกระบวนการหมักคอมบูชา

2.4.1 น้ำตาลซูโครสหรือน้ำตาลทราย

น้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลที่พบได้ทั่วไปในพืช เช่น อ้อย ซึ่งเป็นแหล่งในการผลิตน้ำตาลทรายในอุตสาหกรรม และยังสามารถพบน้ำตาลซูโครสในผลไม้สุกเกือบทุกประเภท เช่น มะม่วงสุก มะพร้าว เป็นต้น น้ำตาลซูโครสมีสูตรโมเลกุล คือ $C_{12}H_{22}O_{11}$ ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ ประกอบไปด้วยน้ำตาลกลูโคสต่อกับน้ำตาลฟรุกโตสด้วยพันธะ α-(1⟶2) น้ำตาลซูโครสไม่คงตัวในกรด จะถูกไฮโดรไลซ์เป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุกโตส ถ้าหากได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส จะเกิดการสลายตัวเป็นคาราเมลมีสีน้ำตาล (รัตนาปนนท์, 2545)



รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างน้ำตาลซูโครส

ที่มา : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Saccharose2.svg (16 พฤศจิกายน 2565)

วัตถุดิบที่ใช้หมักคอมบูชาโดยทั่วๆไปใช้ชาชนิดต่างๆ เช่น ชาอู่หลง ชาเขียว ชาดำ เป็นต้น ในโครงงานพิเศษของเราสนใจกัญชง มาใช้ในกระบวนการหมักคอมบูชา

2.4.2 กัญชง

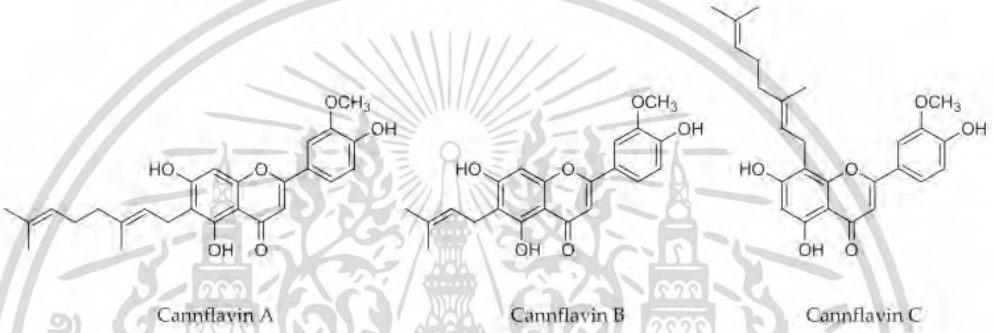
กัญชง (*Cannabis sativa* L.) เป็นพืชที่นิยมปลูกทั่วโลก เดิมกัญชงจะนิยมใช้ในการผลิตเส้นใย วัสดุก่อสร้าง และกระดาษ รวมทั้งใช้เป็นสมุนไพร โดยทั่วไปกัญชงมี 2 สายพันธุ์ สายพันธุ์แรกเป็นสายพันธุ์ที่ผลิตเส้นใย สายพันธุ์ที่สองเป็นสายพันธุ์ที่ผลิต Cannabinoid สำหรับสายพันธุ์กัญชงที่ผลิตเส้นใยจะมีลำต้นสูงและเก็บเกี่ยวมาผลิตเส้นใยและเมล็ด จะมีสาร Cannabinoids ในปริมาณต่ำ ในขณะที่สายพันธุ์ที่ผลิต Cannabinoids ลำต้นจะเตี้ยกว่าและมีสาร Cannabinoids ในปริมาณสูง (ประมาณร้อยละ 15) ขึ้นอยู่กับระดับสารเตตราไฮโดรแคนนาบินอล (Tetrahydrocannabinol, THC) ในพืชกัญชงสามารถจัดจำแนกเป็นกัญชงที่ใช้ในอุตสาหกรรม (มีระดับ THC น้อยกว่าร้อยละ 0.3) และ marijuana (ซึ่งมี THC มากกว่าร้อยละ 0.3) (Chen and Pan, 2021)

สารที่สำคัญในกัญชง ได้แก่ CBD มีมากในช่อดอก และในใบกัญชง CBD ซึ่งสารหลายชนิดในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ต่อระบบประสาท Terpenes ไม่มีฤทธิ์ต่อระบบประสาทมีกลิ่นเฉพาะของต้นกัญชง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cannabinoids จะอยู่ในรูป carboxylic acid เมื่อโดนแสงหรือความร้อนจะ Decarboxylate สารสำคัญที่พบมากคือ Delta-9-tetrahydrocannabinol เป็นสารที่ออกฤทธิ์ทางประสาทที่สำคัญ cannabichromene มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านจุลชีพและเชื้อรา โดยในกัญชงมีสารประกอบฟีนอลที่มีอยู่ทั่วไปในพืชชนิดนี้ โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ สติลบีน และลิกแนน

ในกัญชงจะพบฟลาโวนอยด์อย่างน้อย 26 ชนิด โดยฟลาโวนอยด์สามารถเป็นไกลโคซิเลตหรืออะไกลโคน ฟลาโวนอยด์ที่พบในกัญชงได้แก่ vitexin, isovitexin, apigenin, luteolin, kaempferol, orientin และ quercetin โดยสารประกอบในกัญชงมีความแตกต่างกันในสายพันธุ์และส่วนประกอบต่างๆของกัญชง เช่น ปริมาณสาร orientin ในใบจะมีปริมาณที่สูงกว่าในเมล็ด เป็นต้น



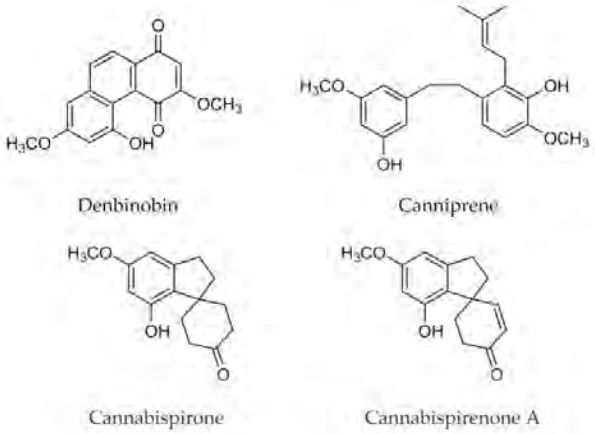
รูปที่ 2.5 ฟลาโวนอยด์ที่พบในกัญชง

ที่มา : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/core/lw/2.0/html/tileshop_pmc/ (27 มิถุนายน 2566)

Cannflavin เป็นฟลาโวนอยด์ที่มีการต้านอนุมูลอิสระได้ดีและมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบและฤทธิ์ต้านมะเร็ง โดยสามารถบรรเทาอาการปวดได้มากกว่าแอสไพรินถึง 30 เท่า

สติลบินอยด์ในกัญชงสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ phenanthrenes, dihydrostilbenes และ spiroindans สามารถแยกได้จากลำต้น ใบ และดอกของกัญชง โดย denbinobin เป็นหนึ่งในสติลบินอยด์ที่โดดเด่นในกัญชงมีฤทธิ์ในการออกซิไดซ์และโปรอะพอพโทซิสต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว และ dihydrostilbenes canniprene เป็นสารประกอบที่มีเฉพาะในกัญชงมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ Cannabispirone และ Cannabispirenone มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบและต้านมะเร็ง

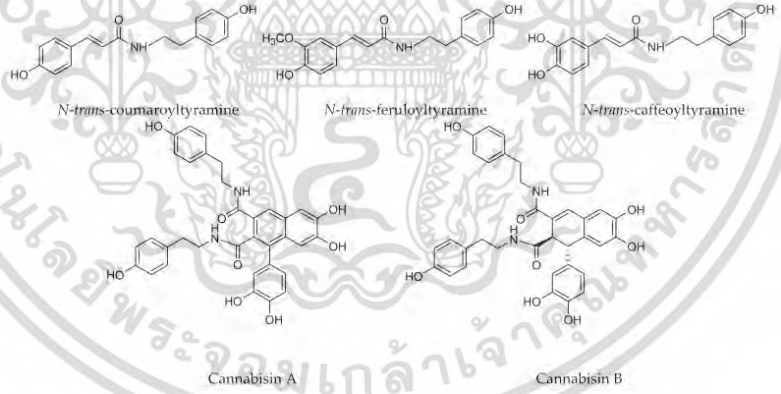
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 สติลบินอยด์จากกัญชง

ที่มา : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/core/lw/2.0/html/tileshop_pmc/tileshop (27 มิถุนายน 2566)

ลิกแนนเป็นโมเลกุลที่นำไปใช้ทางเภสัชกรรมมีคุณสมบัติที่หลากหลาย เช่น *N-trans*-caffeoyltyramine และ cannabisin A มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงและมีคุณสมบัติต้านการอักเสบสำหรับ Grossamide และ Cannabisin F cannabisin B แสดงกิจกรรมที่เป็นพิษต่อเซลล์เช่นกัน



รูปที่ 2.7 ลิกแนนที่อยู่ในกัญชง

ที่มา : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8230455/ (27 มิถุนายน 2566)

โดยฟลาโวนอยด์และสติลบินอยด์พบมากในส่วนของใบ ดอก และลำต้นของกัญชง ในขณะที่ลิกแนนพบในราก เมล็ด และลำต้น (Isidore et al., 2021)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

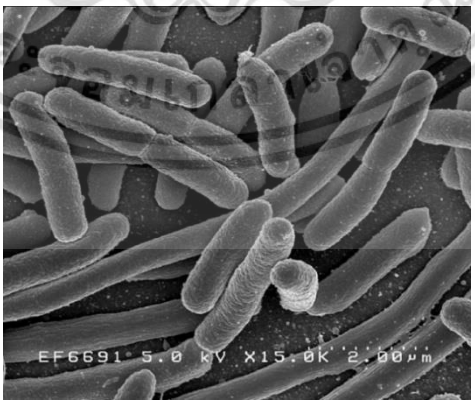
2.5 เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

2.5.1 จุลินทรีย์ก่อโรค

จุลินทรีย์เป็นสาเหตุการเกิดโรคทั้งมนุษย์และสัตว์ จุลินทรีย์หลายชนิดในอาหารเป็นสาเหตุของโรคทางเดินอาหาร เช่น โรคอาหารเป็นพิษ โรคอุจจาระร่วง ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคอย่างกว้างขวางในบางพื้นที่ที่ขาดการป้องกัน (Gashaw et al., 2008)

2.5.1.1 *Escherichia coli* (Desmarchelier and Fegan, 2006)

Escherichia coli อยู่ใน family enterobacteriaceae เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่ง เจริญได้ทั้งมีและไม่มีออกซิเจน (มีทั้งเมแทบอลิซึมของกระบวนการหมักและระบบทางเดินหายใจ) และไม่ผลิตเอนไซม์ออกซิเดส *E. coli* จะมีขนาดกว้าง 1.1–1.5 ไมโครเมตร ยาว 2–6 ไมโครเมตร และเกิดเป็นแท่งตรงเดี่ยว สามารถเคลื่อนที่ได้หรือเคลื่อนที่ไม่ได้ *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น (Normal flora) ที่พบได้ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น โดยปกติจะไม่ทำอันตรายหรือก่อโรคร้ายแรง เมื่ออยู่ในลำไส้จะช่วยย่อยอาหารที่เรารับประทานเข้าไป แต่หากเชื้อ *E. coli* ลุกล้ำเข้าสู่ระบบต่างๆ ของร่างกายก็จะทำให้เกิดโรคติดเชื้อรุนแรง เช่น โรคติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ และการติดเชื้อในกระแสเลือด มีเชื้อ *E. coli* บางสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้ ปนเปื้อนในอาหารหรือน้ำดื่ม ทั้งนี้เชื้อ *E. coli* ที่สามารถก่อโรคอุจจาระร่วง จะมีกลไกการก่อโรคที่สร้างสารพิษได้แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ เช่น เชื้อ Enterotoxigenic *E. coli* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ enterotoxin ทำให้เกิดอาการท้องร่วงแบบเฉียบพลัน ถ่ายเหลวเป็นน้ำ หรือเชื้อ Enterohaemorrhagic *E. coli* ที่สร้างสารพิษ Shiga ทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง ถ่ายเป็นมูกเลือด ก่อให้เกิดกลุ่มอาการเม็ดเลือดแดงแตกและไตวายเฉียบพลัน



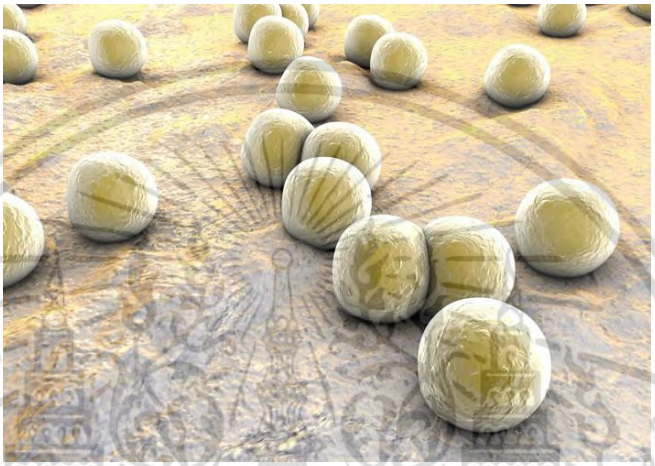
รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli*

ที่มา : http://en.wikipedia.org/wiki/Image:EscherichiaColi_NIAID.jpg (16 พฤศจิกายน 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1.2 *Micrococcus luteus*

Micrococcus luteus อยู่ใน Family Micrococcus ไม่ผลิตเอนไซม์ catalase และ oxidase เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม โคโลนีมีสีเหลือง พบได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ แหล่งน้ำ ดิน และเป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ทั่วไปบริเวณผิวหนังและเยื่อบุช่องปากของมนุษย์ (Erbasan, 2018) *M. luteus* เป็นเชื้อฉวยโอกาสที่พบในคนที่ภูมิคุ้มกันบกพร่อง และการใส่อุปกรณ์การแพทย์เข้าสู่ร่างกาย เช่น ท่อสายสวน ทำให้เกิดการติดเชื้อในร่างกาย ระบบทางเดินหายใจ ระบบประสาท และการติดเชื้อในการแสเลือด



รูปที่ 2.9 แสดงลักษณะของเชื้อ *Micrococcus luteus*

ที่มา : https://wickhammicro.co.uk/knowledge-and-education/micrococcus-luteus (16 พฤศจิกายน 2565)

2.5.1.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสที่กระจายอยู่ทั่วไปในดินและน้ำ ตลอดจนสภาพแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับสัตว์ มนุษย์ และพืช พบได้บ่อยในอาหารทั่วไป โดยเฉพาะผักจำนวนมาก อาศัยอยู่ตามพื้นผิวที่หลากหลาย (เช่น บรรจุภัณฑ์อาหาร ก๊อกน้ำ อุปกรณ์ทางการแพทย์) ในรูปแบบไบโอฟิล์มซึ่งทำให้เซลล์กันไม่ให้สารต้านแบคทีเรียผ่านเข้าไปได้ รวมถึงสารทำความสะอาดฆ่าเชื้อ สารฆ่าเชื้อและยาปฏิชีวนะ (Mena and Gerba, 2009) เชื้อ *P. aeruginosa* เป็นเชื้อก่อโรคในมนุษย์ที่ฉวยโอกาส มันจะไม่ก่อโรคให้กับคนที่มีสุขภาพดี แต่มักจะไปก่อโรคกับผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น มะเร็ง หรือโรคเอดส์

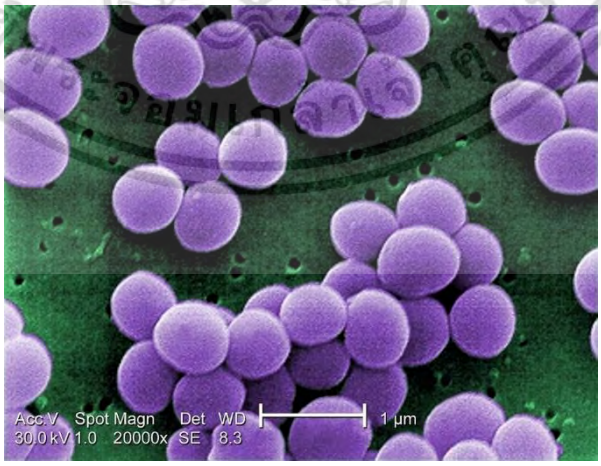
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.10 แสดงลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา : https://orbitbiotech.com/pseudomonas-aeruginosa-isolation-and-identification/ (16 พฤศจิกายน 2565)

2.5.1.4 ***Staphylococcus aureus*** (ศิวาพร, 2542)

Staphylococcus aureus มีลักษณะเป็นทรงกลม เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่เจริญได้ในที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30-37 องศาเซลเซียส *S. aureus* เป็นเชื้อก่อโรคที่สำคัญในมนุษย์ ซึ่งไม่เพียงแต่ทำให้เกิดการติดเชื้อที่ผิวหนังและทางเดินหายใจเท่านั้น และยังเกิดบาดแผลเป็นฝี หนอง และ *S. aureus* ยังกระตุ้นให้เกิดอาหารเป็นพิษจากเชื้อ Staphylococcal ด้วยการผลิต enterotoxins และมักปนเปื้อนในอาหารพวกเนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์นมที่เก็บไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมและเก็บไว้นานก่อนรับประทาน



รูปที่ 2.11 แสดงลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus (16 พฤศจิกายน 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 วิธีการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค

2.6.1 Agar Disc Diffusion

เป็นวิธีที่ใช้แพร่หลายมากที่สุด เนื่องจากสะดวกประหยัด และใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่นๆ ไม่เหมาะกับการทดสอบเชื้อที่เจริญช้า เหมาะสำหรับเชื้อที่สามารถเจริญและสร้างสารปฏิชีวนะในอาหารเหลวได้ดี หลักการคือ ทำการกวาดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค(Swab)ให้ทั่วบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นวางแผ่น paper disc ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ หยดสารสกัดที่จะทดสอบลงบนแผ่น paper disc จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปบ่ม แล้วอ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสรอบๆแผ่น disc ถ้าขนาดของวงใสมีขนาดกว้างแสดงว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดี (Ryan et al., 1960)

2.6.2 Agar well Diffusion

นำโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่ต้องการทดสอบมาปรับความขุ่นของเชื้อในน้ำเกลือให้เท่ากับ 0.5 McFarland standard จุ่มไม้พันสำลีแล้วกวาดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค(Swab)ให้ทั่วผิวหน้าอาหาร Mueller Hinton agar (MHA) ใช้แท่งโลหะกลวงเจาะ และหยดสารสกัดที่จะทดสอบลงไปในหลุมประมาณ 30 ไมโครกรัมต่อหลุม และนำไปบ่ม แล้วอ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นิสา ร่มส้มซ่า และคณะ (2021) ศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของคอมบูชาที่ได้จากกระบวนการหมักโดยทำการทดสอบคุณภาพทางเคมีชีวภาพในผลิตภัณฑ์คอมบูชา ได้แก่ ปริมาณแบคทีเรียกรดอะซิติกและยีสต์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย ทำการทดสอบในระหว่างการหมักคอมบูชาตั้งแต่เริ่มกระบวนการหมักถึงวันที่ 14 ของการหมัก พบว่ายีสต์และแบคทีเรียกรดอะซิติกมีปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Salmonella sp., Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ด้วยด้วยวิธี Agar diffusion พบว่าตัวอย่างคอมบูชามีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการหมักเมื่อเทียบกับชาดำ ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าค่าร้อยละ Scavenging activity เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก นอกจากนี้ยังพบปริมาณฟีนอลิกรวมของตัวอย่างคอมบูชามากที่สุดในวันเริ่มต้นของการหมักและเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตามระยะเวลาการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Jakubczyk และคณะ (2020) ศึกษาคุณภาพทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มคอมบูชาที่ได้จากชาขาว ชาเขียว ชาดำ และชาแดง ทำการหมัก 14 วัน เก็บตัวอย่างวันที่ 1,7 และ 14 โดยชนิดของชาแต่ละชนิดนั้นมีสารต้านอนุมูลอิสระ ความเป็นกรด-เบส ร้อยละของกรดอะซิติก รวมไปถึงสารประกอบฟีนอลิกและน้ำตาลที่ต่างกัน โดยผลการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH แสดงให้เห็นว่า ชาแดงและชาเขียว พบสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชาขาวและชาดำ โดยเฉพาะสารโพลีฟีนอลและฟลาโวนอยด์ ในวันที่ 14 ของการหมัก

Pure, A.E. และ Pure, M.E. (2016) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของคอมบูชาที่เตรียมจากเปลือกกล้วย ใบตำแย และชาดำซึ่งใบตำแยเป็นสมุนไพรทั่วไป ส่วนเปลือกกล้วยเป็นวัสดุเหลือทิ้งที่เป็นสมุนไพร ในขณะที่ชาดำเป็นสมุนไพรทั่วไปที่ใช้ในการเตรียมคอมบูชา จากการศึกษาพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก วิเคราะห์โดยวิธี Folin-Ciocalteu assay ชาดำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด รองลงมาเป็นใบตำแยและเปลือกกล้วย ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าคอมบูชาจากเปลือกกล้วยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดถึงร้อยละ 94.62 รวมทั้งผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคโดยวิธี Disk diffusion กับเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Bacillus stearothermophilus, Staphylococcus aureus, Staphylococcus saprophyticus* และ *Pseudomonas aeruginosa* พบว่าไม่มีสารสกัดใดแสดงการยับยั้งแบคทีเรียที่กล่าวมาข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 ชาอู่หลง (ตราสามม้า เบอร์ 1)

3.1.1.2 น้ำตาลซูโครส (น้ำตาลอ้อย ตรา ท็อป)

3.1.1.3 กัญชง (ใบและก้าน) จากฟาร์มกัญชง จังหวัดกาญจนบุรี

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.2.1 0.1 N Sodium hydroxide

3.1.2.2 1 N Sodium hydroxide

3.1.2.3 0.85% Sodium chloride

3.1.2.4 10% Acetic acid

3.1.2.5 70% Ethanol

3.1.2.6 95% Ethanol

3.1.2.7 Agar

3.1.2.8 Nutrient Broth

3.1.2.9 Mueller Hinton Broth

3.1.2.10 Yeast extract Peptone Dextrose (YPD) Broth

3.1.2.11 Glucose Yeast extract calcium carbonate (GYC) Broth

3.1.2.12 Barium chloride

3.1.2.13 Phenolphthalein

3.1.2.14 Phosphoric acid

3.1.2.15 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

3.1.2.16 Folin-Ciocalteu reagent

3.1.2.17 Sodium carbonate

3.1.2.18 Gallic acid

3.1.2.19 Sulfuric acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2.20 Phosphoric acid

3.1.2.21 Absolute Ethanol

3.1.2.22 Ultrapure Water (น้ำบริสุทธิ์)

3.1.2.23 น้ำกลั่น

3.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.3.1 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.1.3.2 หลอดทดลอง

3.1.3.3 ขวดเก็บตัวอย่าง

3.1.3.4 กรวยแก้ว

3.1.3.5 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.3.6 ลูกยาง

3.1.3.7 ปิเปต ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร

3.1.3.8 บิวเรตต์

3.1.3.9 กระบอกตวงแก้ว ขนาด 100 และ 500 มิลลิลิตร

3.1.3.10 ไมโครปิเปต ขนาด 20 และ 200 ไมโครลิตร

3.1.3.11 บีกเกอร์ ขนาด 250, 600 และ 1000 มิลลิลิตร

3.1.3.12 ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร

3.1.3.13 Cork borer ขนาดผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

3.1.3.14 โหลแก้วสำหรับหมักคอมบูชา

3.1.3.15 กระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร

3.1.3.16 96-well plate

3.1.3.17 ขวดเก็บตัวอย่างขนาด 30 ซีซี

3.1.3.18 หลอดเซนตริฟิวจ์ ฝา และแท่นวางหลอดเซนตริฟิวจ์

3.1.3.19 ผ้าขาวบาง

3.1.3.20 ด้าย

3.1.3.21 หม้อต้มและทัพพี

3.1.3.22 ถ้วยตวงสแตนเลส

3.1.3.23 คิวเวต

3.1.3.24 ลวดเขี่ยเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3.25 ชุดเข็มตัวกรอง (Swinnex filter holder)

3.1.3.26 ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (cotton swab)

3.1.3.27 กระบอกฉีดยา (syringe) ขนาด 20 มิลลิลิตร

3.1.3.28 จานเพาะเชื้อ

3.1.3.29 คีมคีบ

3.1.3.30 ทิปเหลืองและทิปฟ้า

3.1.3.31 เครื่องเวอร์เนียคาลิปเปอร์

3.1.3.32 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (Sartorius TE214S, Germany)

3.1.3.33 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (Mettler-Toledo, CH 8603, Switzerland)

3.1.3.34 หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (autoclave) (TOMY, HV-25/50/95/110, Japan)

3.1.3.35 เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Microplate reader) (Mettler Toledo FLUO Star Omega, United States)

3.1.3.36 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Memmert INB500, Germany)

3.1.3.37 ตู้เขี่ยเชื้อ (Vertical Laminar Air flow) (Telstar Bio two advance, Spain)

3.1.3.38 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) (Hermle Z 383 K, United States)

3.1.3.39 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (Shimadzu UV-1601, Japan)

3.1.3.40 เครื่อง Vortex (SI Genie 2, United States)

3.2 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

3.2.1 การเตรียมใบและก้านใบกัญชง

ใบกัญชงได้จากฟาร์มในจังหวัดกาญจนบุรี นำมาล้างให้สะอาดกำจัดสิ่งปนเปื้อน เด็ดใบและก้านแยกจากกัน จากนั้นนำไปอบให้แห้งในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน เก็บใบและก้านกัญชงใส่ถุงพลาสติกปิดให้สนิท เก็บเข้าตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส สำหรับชาอู่หลง ใช้ชาอู่หลงตราสามม้า เบอร์ 1จากซุปเปอร์มาร์เก็ตเขตลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 การหมักคอมบูชาด้วยเชื้อ *Saccharomyces boulardii* และ *Acetobacter pasteurianus* AJ 605

3.2.2.1 การเตรียมเชื้อยีสต์

เลี้ยงเชื้อ *Saccharomyces boulardii* ซึ่งแยกได้จากยาแก้ท้องเสีย Bioflor บนอาหาร YPD (Yeast Extract Peptone Dextrose Agar) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นถ่ายลงในน้ำชาอู่หลง, น้ำก้านกัญชง และน้ำใบกัญชงที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสร้อยละ 7 น้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 150 มิลลิลิตร บ่มในสภาวะเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาวัดความขุ่นที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ได้ OD เท่ากับ 1 จะได้กล้าเชื้อของ *Saccharomyces boulardii*

3.2.2.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียอะซิติก

เลี้ยงเชื้อ *Acetobacter pasteurianus* AJ 605 ซึ่งแยกได้จากกระบวนการหมักคอมบูชา (ปิยะวรรณ และคณะ, 2562) เพาะเลี้ยงบนอาหาร GYC (Glucose Yeast Extract Calcium Carbonate Agar) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นถ่ายลงในน้ำชาอู่หลง, น้ำก้านกัญชง และน้ำใบกัญชง ที่มีความเข้มข้นซูโครส ร้อยละ 7 น้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 150 มิลลิลิตร บ่มในสภาวะเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ได้ OD เท่ากับ1จะได้กล้าเชื้อของแบคทีเรียอะซิติก

3.2.3 กระบวนการหมักคอมบูชา

3.2.3.1 การเตรียมอาหารสำหรับการหมักคอมบูชา

นำน้ำสะอาดต้มจนเดือด เติมใบกัญชง ก้านใบกัญชง และชาอู่หลง แยกแต่ละส่วนความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยมวลต่อปริมาตร ในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที นำวัตถุดิบออกจากน้ำชา เติมน้ำตาลทราย ร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร คนให้ละลายและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนผสมบรรจุในโหลหมัก ขนาด 650 มิลลิกรัม ปริมาตรอาหาร 500 มิลลิลิตร เติมกล้าเชื้อยีสต์และแบคทีเรียอะซิติกในอัตราส่วน 7:3 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ร้อยละ 10 โดยปริมาตร ปิดโหลหมักด้วยผ้าขาวบาง บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ค่า ค่าความเป็นกรด-เบส ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี Agar well diffusion เปรียบเทียบกับใบ ก้านกัญชง และชาอู่หลงที่ไม่ผ่านการหมัก

3.2.4 การวิเคราะห์

3.2.4.1 ค่าความเป็นกรด-เบส โดยใช้เครื่อง pH meter

3.2.4.2 ปริมาณกรดทั้งหมด(ร้อยละกรดอะซิติก) ด้วยวิธี AOAC (2000)

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร จากนั้นนำตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตรเจือจางกับน้ำปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์ ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีนความเข้มข้นร้อยละ 1 จำนวน 3 หยด เขย่าให้เข้ากัน นำมาไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในบิวเรต บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ทำให้สารละลายตัวอย่างเปลี่ยนสีเป็นสีชมพู (จุดยุติ) แสดงผลเป็นร้อยละ ตามสูตร

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก)} = \frac{V \times N \times MW\ (\text{acetic acid} = 60.05) \times 100}{1000 \times \text{ปริมาณสารตัวอย่าง}}$$

โดยที่ V คือ ปริมาตรของสารละลาย NaOH (ml) ที่ใช้ไตเตรท

N คือ ความเข้มข้นของสารละลาย NaOH

3.2.4.3 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ด้วยวิธี Phenol sulfuric ดัดแปลงจาก Chaplin, (1986)

การทำกราฟมาตรฐาน โดยการนำกลูโคสอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปใส่โถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ชั่งกลูโคสที่ผ่านการอบแห้ง 0.01 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร นำสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มาทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0, 10, 20, 40, 60, 80, และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นใส่ลงในหลอดทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ จากนั้นเติมสารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 98 ทิ้งไว้ 30 นาที เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้มาทำกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในตัวอย่าง นำตัวอย่างคอมบูชาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสที่ได้มาเจือจางแล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี Phenol sulfuric เช่นเดียวกับการทำกราฟมาตรฐาน คำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในตัวอย่างคอมบูชา

3.2.4.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยดัดแปลงจาก Chidambara, (2002)

การวิเคราะห์ฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolics content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ดัดแปลงวิธีของ Chidambara et al., (2002) นำตัวอย่างคอมบูชาจากใบและก้านกัญชง 20 ไมโครลิตรผสมกับสาร Folin-Cicocalteu phenol reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงใน 96-well plate ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นเติมสารโซเดียมคาร์บอเนต เข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร เตรียมแบลงค์ (blank) ของตัวอย่างโดยการใช้ตัวอย่างหยดลงในไมโครเพลท 20 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 180 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมด จากกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้นในช่วง 0, 50, 100, 200, 300 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ยในรูปไมโครกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อคอมบูชา 1 (µg GAE/ml sample)

$$\text{ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร)} = \frac{A765 - B \times D}{M}$$

โดยที่ A765 คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
B คือ จุดตัดแกน Y ของกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก
M คือ ค่าความชันกราฟมาตรฐานแกลลิก
D คือ ค่าการเจือจางของตัวอย่าง

3.2.4.5 การดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ดัดแปลงจาก Blois (1958)

นำตัวอย่างปริมาตร 50 ไมโครลิตร มาผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ที่ละลายในเอทานอล 100 ไมโครลิตร บ่มสารที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนของแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณฤทธิ์ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันตามสมการ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระ(ร้อยละ) $= [(A_{control} - A_{sample})/ A_{control}] \times 100$

โดยที่ A_{sample} เป็นค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่เติมสารละลาย DPPH

A_{blank} เป็นค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและน้ำกรอง

$A_{control}$ เป็นค่าการดูดกลืนแสงของเอทานอลที่เติมสารละลาย DPPH

3.2.5 ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค

ใช้วิธี Agar well diffusion โดยนำน้ำชาอู่หลง น้ำก้านกัญชงและน้ำใบกัญชงที่ไม่ผ่านการหมัก (infusion) และน้ำชาอู่หลง,น้ำก้านกัญชงและน้ำใบกัญชงที่ผ่านการหมัก 14 วัน ใช้ Mc Farland 0.5 ในการเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* , *Micrococcus luteus* , *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* โดยเลี้ยงบนอาหาร Mueller Hinton broth (MHA) ใช้ไม้พันสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้ว Swab บนผิวหน้าอาหาร MHA จากนั้นใช้แท่งโลหะกลวง (cork borer) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาเจาะลงบนอาหาร MHA จำนวน 7 หลุมต่อ 1 จาน หยดตัวอย่างจำนวน 6 ตัวอย่าง คือ น้ำชาอู่หลง น้ำก้านกัญชง น้ำใบกัญชง ชาหมัก น้ำก้านกัญชงหมัก และน้ำใบกัญชงหมัก หลุมละประมาณ 30 ไมโครลิตร วัดบริเวณยับยั้งเชื้อ (inhibition zone) โดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์ (Vernier Caliper) ภายหลังการบ่ม 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ยาปฏิชีวนะ Gentamycin และ Vancomycin ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control) สำหรับแบคทีเรียแกรมลบ และแบคทีเรียแกรมบวก ตามลำดับ การทดลองทำ 3 ซ้ำ

3.2.6 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

โดยกำหนดวิธีการให้คะแนนความชอบตามวิธี 9-Point Hedonic Scale ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค โดยมีคะแนนตั้งแต่ 1- 9 คะแนน (1 - ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 - ชอบมากที่สุด) โดยมีลักษณะที่ใช้ทดสอบคือ ด้านสี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม จากนั้นนำข้อมูลทั้งหมดมาหาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะต่างๆ ใช้ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสจำนวน 30 คน เป็นนักศึกษาของคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง มีอายุในช่วง 22-25 ปี ทั้งเพศชายและเพศหญิง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.7 การวางแผนการทดลองทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) มีจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละตัวอย่างที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) ด้วยวิธีของ Duncan's new multiple range test (DMRT) วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้โปรแกรมทางสถิติในการวิเคราะห์ข้อมูล และสำหรับชุดการทดลองที่มี 2 การทดลองใช้แบบ paired samples T-test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง ใบกัญชง

4.1.1 ค่าความเป็นกรด-เบสของคอมบูชาโดยใช้ pH meter

จากการหมักคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง เป็นระยะเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างวันที่ 0 และ 14 เมื่อวิเคราะห์พบว่าค่าความเป็นกรด-เบสของคอมบูชาแต่ละชนิดจะมีค่าลดลง แสดงดังตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าวันที่ 0 คอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง มีค่าความเป็นกรด-เบส 6.79±0.08 6.04±0.01 และ 6.56±0.12 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 วันสุดท้ายของการหมัก (14 วัน) คอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง มีค่าความเป็นกรด-เบส 2.34±0.05 2.68±0.03 และ 2.56±0.05 ตามลำดับ พบว่าคอมบูชาจากก้านกัญชงมีค่าความเป็นกรด-เบสสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชงมีค่าความเป็นกรด-เบสที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างระยะเวลาการหมักที่0 และ14 วัน พบว่า ค่าความเป็นกรด-เบสของคอมบูชาแต่ละชนิดมีความแตกต่างทางสถิติ ($P<0.05$) ดังตารางภาคผนวกที่ 4.1.1 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jakubczyk et al., (2016) ศึกษาค่าความเป็นกรด-เบส ค่าความเป็นกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด น้ำตาลทั้งหมด และการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง พบว่าค่าความเป็นกรด-เบสที่ลดลงและแปรผกผันกับปริมาณกรดอะซิติกที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียที่ใช้สามารถนำน้ำตาลในชาหมักมาผลิตกรดอะซิติกได้

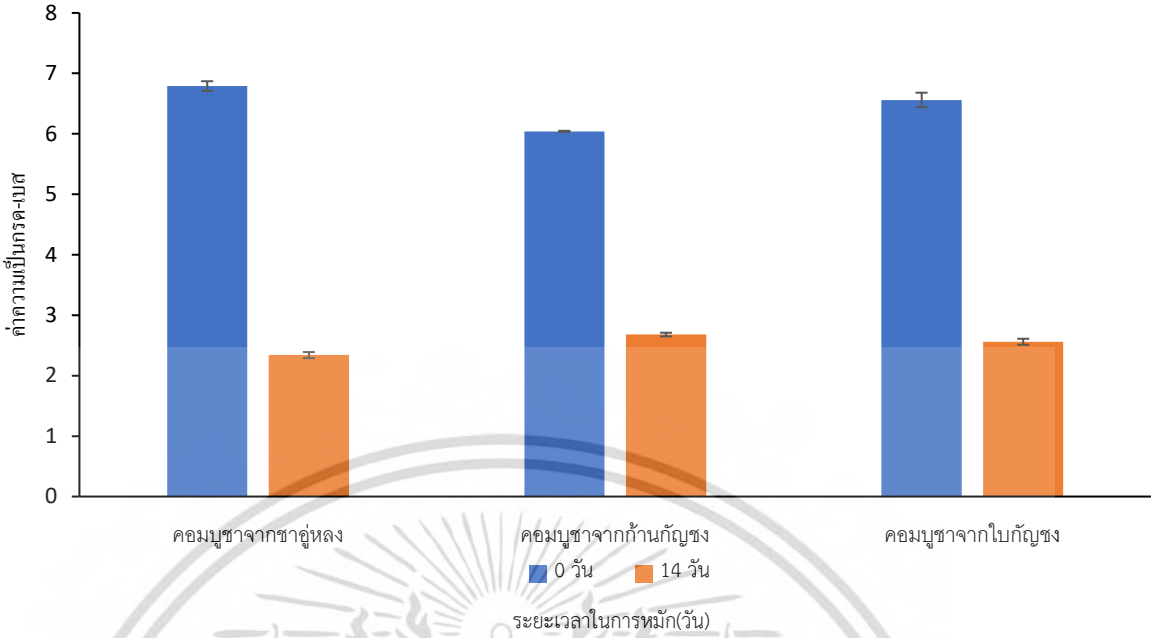
ตารางที่ 4. 1 ค่าความเป็นกรด-เบสของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	ความเป็นกรด-เบส		
	คอมบูชาจากชาอู่หลง	คอมบูชาจากก้านกัญชง	คอมบูชาจากใบกัญชง
0	6.79 ± 0.08^{a}	6.04 ± 0.01^{c}	6.56 ± 0.12^{b}
14	2.34 ± 0.05^{c}	2.68 ± 0.03^{a}	2.56 ± 0.05^{b}

หมายเหตุ

- ค่าความเป็นกรด-เบส แสดงรูปในค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทดลอง 3 ซ้ำ
- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 ค่าความเป็นกรด-เบสของคอมบูชาแต่ละชนิดในการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน

4.1.2 ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก)

จากการหมักคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่า วันที่14 ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) ของคอมบูชาแต่ละชนิดเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรด-เบสที่ลดลง โดยในวันที่ 0 และ 14 ของการหมักคอมบูชาแต่ละชนิดนั้นมีปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) เพิ่มขึ้นโดยปริมาณกรดทั้งหมดในวันที่ 0 คอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง เท่ากับร้อยละ 0.04±0.01 0.02±0.01 และ 0.08±0.01 น้ำหนักต่อปริมาตร วันสุดท้ายของการหมัก (14 วัน) คอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง มีปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) สูง ร้อยละ 0.90±0.05 น้ำหนักต่อปริมาตร 0.40±0.00 น้ำหนักต่อปริมาตร และ 0.78±0.02 น้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้น ปริมาณกรดทั้งหมดของคอมบูชาแต่ละชนิดจะสูงขึ้นและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งคอมบูชาจากก้านกัญชงมีปริมาณกรดทั้งหมดต่ำกว่าคอมบูชาจากชาอู่หลง และใบกัญชง แสดงดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2

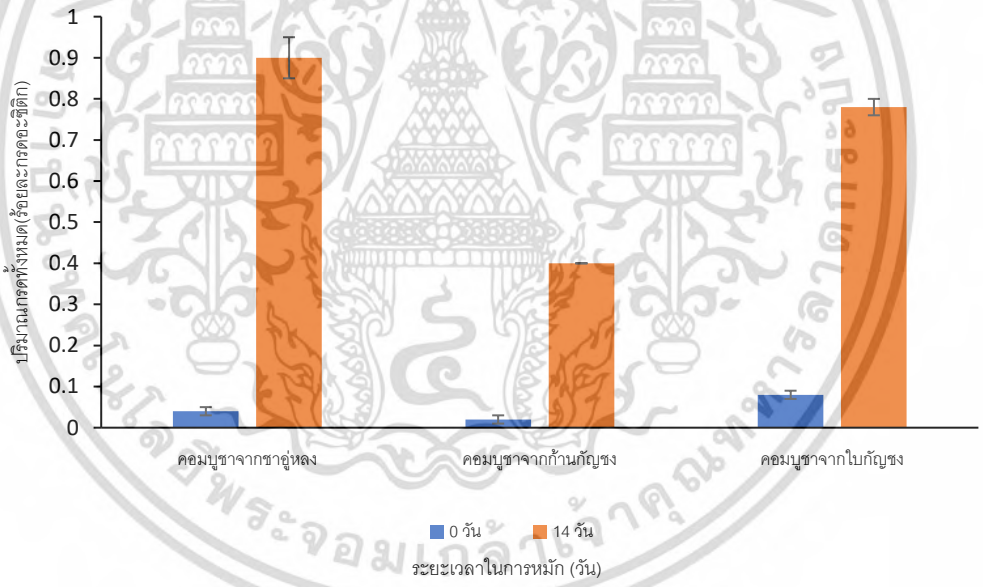
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4. 2 ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) ในคอมบูชาแต่ละหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	ปริมาณกรดทั้งหมด(ร้อยละของกรดอะซิติก)		
	คอมบูชาจากชาอู่หลง	คอมบูชาจากก้านกัญชง	คอมบูชาจากใบกัญชง
0	0.04±0.01^{b}	0.02±0.01^{c}	0.08±0.01^{a}
14	0.90±0.05^{a}	0.40±0.00^{c}	0.78±0.02^{b}

หมายเหตุ

- ค่าปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) แสดงรูปในค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทดลอง 3 ซ้ำ
- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



รูปที่ 4.2 ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) ของคอมบูชาในการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง ด้วยวิธี Phenol-sulfuric แสดงดังตารางที่ 4.3 รูปที่ 4.3 พบว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมีปริมาณลดลงในวันที่ 14 โดยพบว่าวันสุดท้ายของการหมัก (14 วัน) คอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 42.13±0.13 63.57±0.15 และ 45.97±0.46 ตามลำดับ พบว่าคอมบูชาจากชาอู่หลง และใบกัญชงมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดใกล้เคียงกัน ยกเว้นคอมบูชาจากก้านกัญชง เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้น ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของคอมบูชาแต่ละชนิดจะลดลง และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ นิสา และคณะ (2021) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลระหว่างการหมักคอมบูชา พบว่าปริมาณน้ำตาลมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการหมักจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก (14 วัน) โดยปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของตัวอย่างคอมบูชาเริ่มต้น วันที่ 0 เท่ากับ 8.41±0.07 กรัมต่อลิตร และวันสุดท้ายของการหมัก (14 วัน) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของตัวอย่างคอมบูชาลดลงเท่ากับ 6.57±0.12 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์สามารถนำน้ำตาลในชาหมักมาผลิตแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้

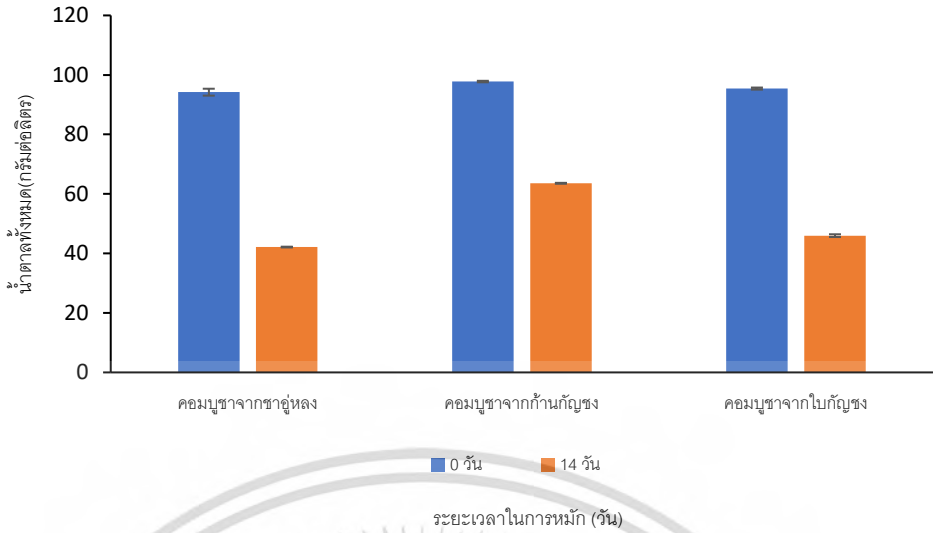
ตารางที่ 4. 3 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)		
	คอมบูชาจากชาอู่หลง	คอมบูชาจากก้านกัญชง	คอมบูชาจากใบกัญชง
0	94.20±1.16^{b}	97.77±0.25^{a}	95.40±0.35^{b}
14	42.13±0.13^{c}	63.57±0.15^{a}	45.97±0.46^{b}

หมายเหตุ

- แสดงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ
- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร) ของคอมบูชาแต่ละชนิดในการหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 14 วัน

4.1.4 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

จากการหมักคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 14 แสดงดังตารางที่ 4.4 รูปที่ 4.4 จะเห็นได้ว่าวันที่ 0 คอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 306.97±0.49 15.03±0.23 และ 29.03±0.01 µg GAE/ml ตามลำดับ คอมบูชาจากชาอู่หลงมีสารประกอบฟีนอลิกเริ่มต้นสูงกว่าก้านกัญชง และใบกัญชง ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 วันสุดท้ายของการหมัก (14 วัน) คอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 379.66± 0.12 34.06±0.17 และ 73.40±0.08 µg GAE/ml ตามลำดับ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 เนื่องจากการย่อยสลายของสารประกอบฟีนอลิกที่มีโมเลกุลเชิงซ้อนได้สารประกอบฟีนอลิกโมเลกุลขนาดเล็กในระหว่างการหมักด้วยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ ส่งผลให้มีสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มมากขึ้น (Ivanišová et al., 2019)

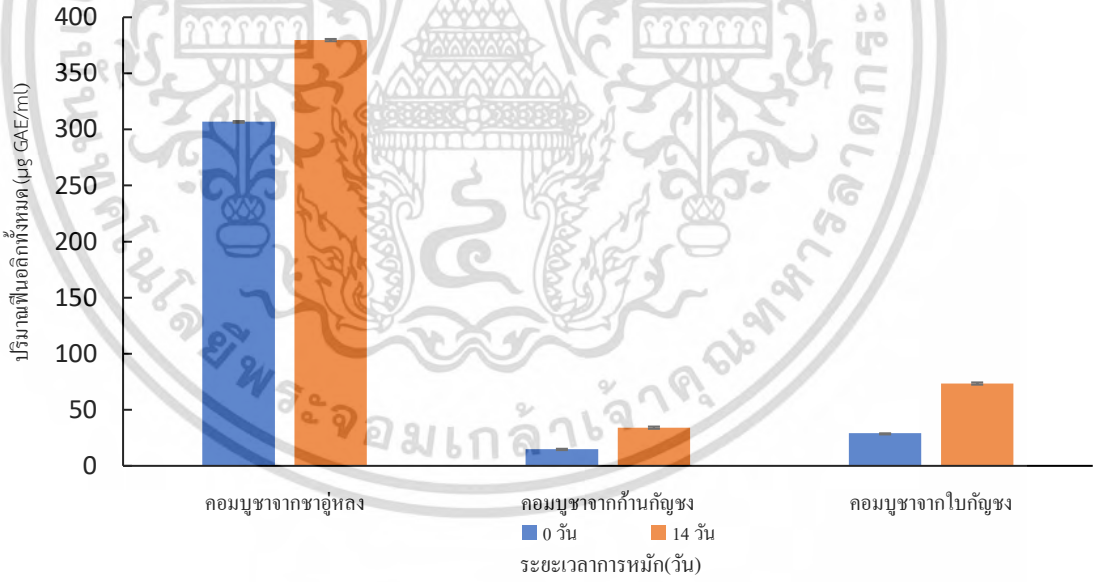
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4. 4 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (µg GAE/ml)		
	คอมบูชาจากชาอู่หลง	คอมบูชาจากก้านกัญชง	คอมบูชาจากใบกัญชง
0	306.97±0.49^{a}	15.03±0.23^{c}	29.03±0.01^{b}
14	379.66±0.12^{a}	34.06±0.17^{c}	73.40±0.08^{b}

หมายเหตุ

- แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ
- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในการหมักคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.5 การวิเคราะห์กิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

จากการหมักคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง เมื่อวิเคราะห์กิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าค่าการดักจับอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในช่วงเริ่มต้นของกระบวนการหมัก (วันที่0) คอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง มีกิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระร้อยละ 96.04±0.03 26.64±0.17 และ 57.40±0.26 ตามลำดับ และในวันสุดท้ายของการหมัก (14 วัน) คอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง มีค่ากิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระร้อยละ 99.94±0.05 69.31±0.80 และ 89.65±0.48 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง มีกิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นในวันสุดท้ายของการหมักเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงเริ่มต้นกระบวนการหมัก ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้น โดยคอมบูชาจากชาอู่หลง มีกิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือ คอมบูชาจากใบกัญชง จากผลการทดลอง พบว่า คอมบูชาจากใบกัญชง มีกิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระในวันที่ 14 เพิ่มสูงขึ้นอย่างมากเมื่อเทียบกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในวันที่ 14 อาจเนื่องจากใบกัญชงมีสารต้านอนุมูลอิสระประเภท สติลบีนอยด์ ลิกแนน และสารประกอบฟลาโวนอยด์ 26 ชนิด หนึ่งในนั้นคือ โอเรียนทิน (orientin) ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ประเภทโพลีฟีนอลซึ่งพบมากที่สุดในใบกัญชง นอกจากนี้ยังพบ Cannflavin A และ B ซึ่งเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ในกัญชงและใช้ในทางการแพทย์ ซึ่งไม่พบสารเหล่านี้ในชาอู่หลง ส่งผลให้ในวันสุดท้ายของการหมัก คอมบูชาจากใบกัญชงมีค่ากิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด Tanticharakunsiri et al., (2020) ศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์คอมบูชาจากชาอู่หลง และสะระแหน่ ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของคอมบูชาด้วยวิธี DPPH พบว่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างคอมบูชาเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในวันเริ่มต้นของการหมัก (วันที่ 0) ตัวอย่างคอมบูชาจากชาอู่หลงและสะระแหน่มีสารต้านอนุมูลอิสระเท่ากับร้อยละ 95.43±0.27 และ 94.05±0.17 ตามลำดับ ในวันสุดท้ายของการหมัก (14 วัน) มีสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 96.11±0.22 และ 95.37±0.17 ตามลำดับ

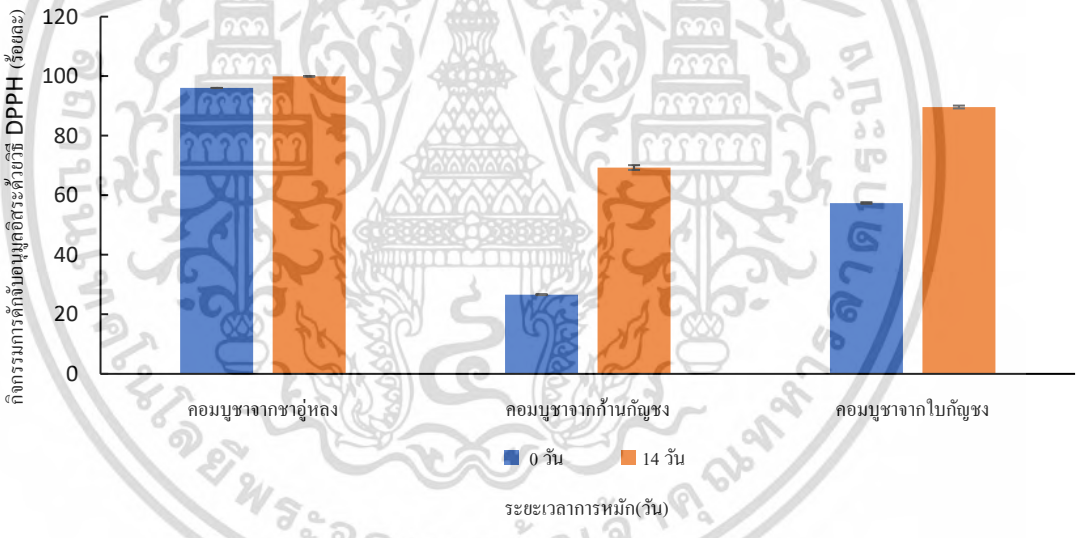
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4. 5 ค่าการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	กิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ร้อยละ)		
	คอมบูชาจากชาอู่หลง	คอมบูชาจากก้านกัญชง	คอมบูชาจากใบกัญชง
0	96.04±0.03[a]	26.64±0.17[c]	57.40±0.26[b]
14	99.94±0.05[a]	69.31±0.80[c]	89.65±0.48[b]

หมายเหตุ

- แสดงปริมาณร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ
- [abc] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



รูปที่ 4.5 ค่าการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน

4.2 ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง

จากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของคอมบูชาที่หมักจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างวันที่ 0 และวันที่ 14 โดยคอมบูชาที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ดี คือ คอมบูชาจากใบกัญชง รองลงมาคือ คอมบูชาจากชาอู่หลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คอมบูชาจากใบกัญชงที่หมักเป็นระยะเวลา 14 วัน มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ มีบริเวณยับยั้งเชื้อที่ใกล้เคียงกัน คอมบูชาจากก้านกัญชงที่หมักเป็นระยะเวลา 14 วัน ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค วันที่14 จะพบว่าฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของคอมบูชาจากชาอู่หลง และใบกัญชง มีบริเวณยับยั้งแบคทีเรียอยู่ในช่วง 7.66±1.45 ถึง 9.33±2.08 และ 10.08±0.57 ถึง 12.57±0.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.6

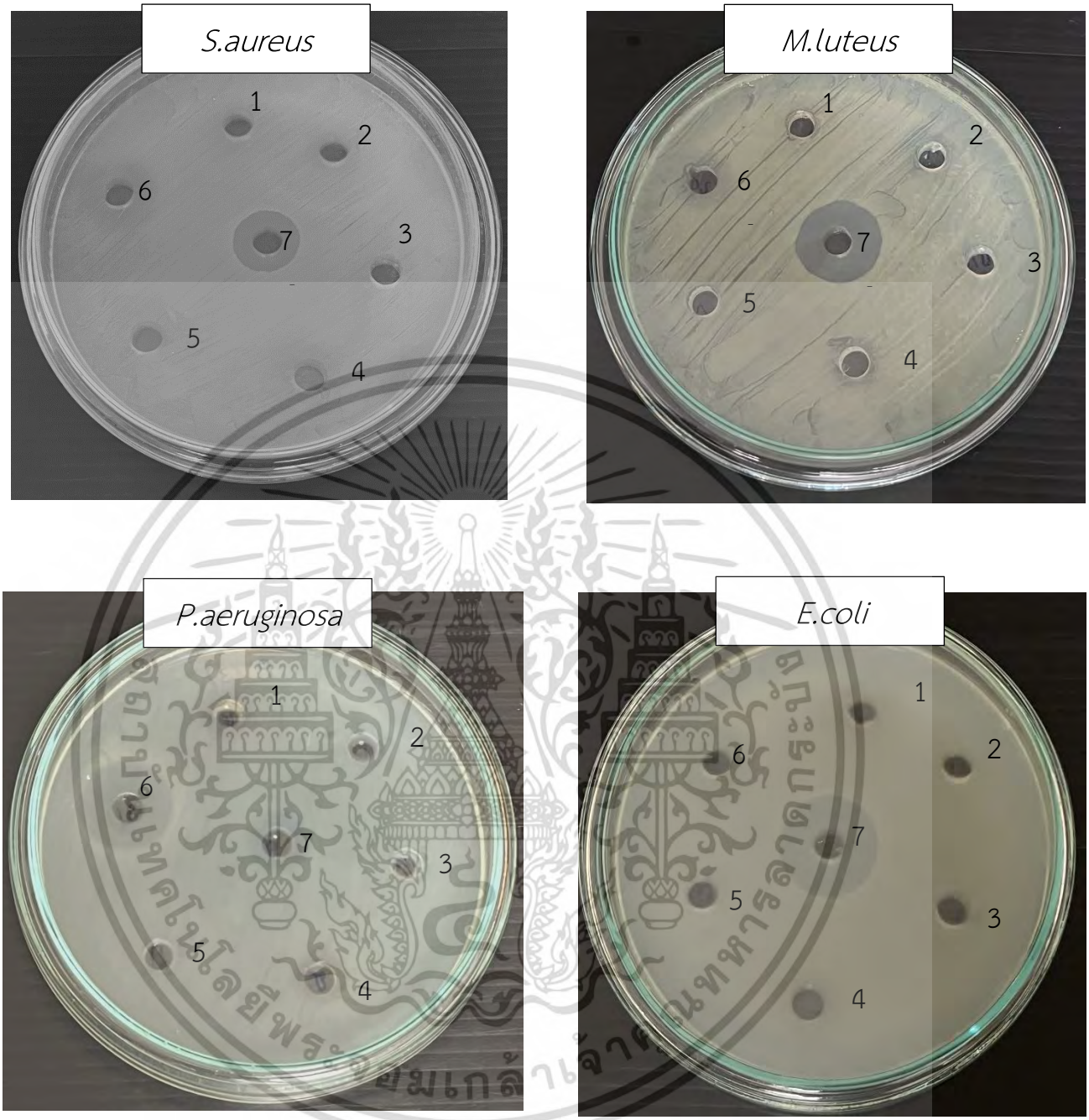
ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในคอมบูชาแต่ละชนิด

ระยะการหมัก (วัน)	ชนิดของคอมบูชา	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค (มิลลิเมตร)			
		แบคทีเรียแกรมบวก		แบคทีเรียแกรมลบ	
		M.luteus	*S.aureus*	*E.coli*	*P.aeruginosa*
0	ใบชาอู่หลง	6.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{a}
	ใบกัญชง	6.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{a}
	ก้านกัญชง	6.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{a}
14	คอมบูชาจากชาอู่หลง	9.33±2.08^{b}	7.66±1.45^{c}	8.33±2.31^{c}	8.90±1.01^{b}
	คอมบูชาจากใบกัญชง	10.83±0.57^{b}	11.17±0.15^{b}	11.23±0.21^{b}	12.57±0.38^{a}
	คอมบูชาจากก้านกัญชง	6.00±0.00^{c}	6.00±0.00^{d}	6.00±0.00^{c}	6.00±0.00^{c}
	ยาปฏิชีวนะ	17.96±0.35^{a}	14.44±0.51^{a}	20.07±0.93^{a}	8.77±1.33^{b}

หมายเหตุ

- ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในคอมบูชาแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ
- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อพิจารณาระยะการหมัก(วัน)เดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในคอมบูชาจากชาอู่หลง ใบกัญชง และก้านกัญชง หมักเป็นเวลา 14 วัน (1 : น้ำชาอู่หลง 2 : น้ำก้านกัญชง 3 : น้ำใบกัญชง 4 : ชาอู่หลงหมัก 14 วัน 5 : ก้านกัญชงหมัก 14 วัน 6 : ใบกัญชงหมัก 14 วัน 7: ยาปฏิชีวนะ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง

นำคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชงหมักเป็นเวลา 14 วัน ทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง รสชาติเปรี้ยวเกินไปไม่สามารถนำมาให้ผู้ทดสอบทดสอบรสชาติได้ จึงนำคอมบูชามาปรับปรุงรสชาติ โดยคอมบูชาจากชาอู่หลงนำมาผสมกับชาอู่หลงหวาน (ชาอู่หลงร้อยละ 1 และน้ำตาลทรายร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตร) อัตราส่วน 1 : 1 1 : 1.5 1 : 2 1 : 2.5 1 : 3 คอมบูชาจากก้านกัญชงผสมกับน้ำก้านกัญชง คอมบูชาจากใบกัญชงผสมกับน้ำใบกัญชงอัตราส่วนเช่นเดียวกับคอมบูชาจากชาอู่หลง จากนั้นนำคอมบูชาทั้งสามบรรจุขวดนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าคอมบูชาจากชาอู่หลงอัตราส่วน 1 : 2.5 มีคะแนนด้านความใส 7.37 ± 1.33 คะแนนด้านสี 7.70±1.15 คะแนนด้านกลิ่น 6.80±1.16 คะแนนด้านรสชาติ 7.23±0.90 และคะแนนด้านความชอบโดยรวม 7.50±0.86 ซึ่งมีคะแนนด้านต่างๆ เหล่านี้สูงกว่าคอมบูชาจากชาอู่หลงอัตราส่วน 1 : 1 1 : 1.5 และ 1 : 2 และแตกต่างทางสถิติที่สถิติ ($p<0.05$) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับอัตราส่วน 1 : 3

ตารางที่ 4.7 ทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากชาอู่หลงที่ผ่านการปรับปรุงรสชาติด้วยการผสมน้ำชาอู่หลงในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

อัตราส่วนของคอมบูชาจากชาอู่หลง : น้ำชาอู่หลง	คะแนนทดสอบทางประสาทสัมผัส				
	ความใส	สี	กลิ่น NS	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
1 : 1	6.00±1.53^{b}	6.03±1.77^{c}	6.27±1.34	6.07±1.23^{c}	6.30±1.32^{b}
1: 1.5	6.57±1.22^{bc}	6.53±1.55^{bc}	6.37±1.30	6.63±1.03^{bc}	6.50±1.66^{b}
1 : 2	6.33±1.35^{b}	6.13±1.11^{c}	6.70±1.02	6.43±1.19^{bc}	6.73±1.46^{b}
1 : 2.5	7.37±1.33^{a}	7.70±1.15^{a}	6.80±1.16	7.23±0.90^{a}	7.50±0.86^{a}
1 : 3	7.23±1.31^{ab}	7.07±0.83^{ab}	6.30±1.06	6.87±1.07^{ab}	6.83±1.15^{ab}

หมายเหตุ

- การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์คอมบูชาแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดสอบ 30 คน
- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- NS (not significant) เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คอมบูชาจากก้านใบกัญชงที่ผ่านการปรับปรุงรสชาติด้วยน้ำก้านใบกัญชงในอัตราส่วนต่างๆ พบว่าคอมบูชาจากก้านใบกัญชงอัตราส่วน 1 : 2.5 ได้รับคะแนนด้านความใส สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมสูงกว่าอัตราส่วน 1 : 1 1 : 1.5 1 : 2 และ 1 : 3 แต่เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p>0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากก้านกัญชงที่ผ่านการปรับปรุงรสชาติด้วยการผสมน้ำก้านใบกัญชงในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

อัตราส่วนของคอมบูชาจากก้านกัญชง : น้ำก้านกัญชง	คะแนนทดสอบทางประสาทสัมผัส				
	ความใส NS	สี NS	กลิ่น NS	รสชาติ NS	ความชอบโดยรวม NS
1 : 1	6.67±1.15	6.30±1.09	6.07±1.39	6.17±0.99	6.17±1.12
1 : 1.5	6.20±1.13	6.33±0.99	6.13±1.46	6.07±0.87	6.20±1.00
1 : 2	6.67±1.03	6.77±1.14	6.37±1.16	6.17±1.21	6.23±1.17
1 : 2.5	6.90±1.35	6.97±1.13	6.47±1.25	6.50±1.22	6.77±1.36
1 : 3	6.47±1.48	6.6±1.50	6.33±1.32	6.23±0.82	6.47±1.28

หมายเหตุ

- การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์คอมบูชาแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดสอบ 30 คน
- NS (not significant) เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับคอมบูชาจากใบกัญชงอัตราส่วน 1 : 2.5 มีคะแนนด้านความใส 7.37±1.30 คะแนนด้านสี 6.87±1.20 คะแนนด้านกลิ่น 6.40±0.86 คะแนนด้านรสชาติ 6.20±0.66 และคะแนนความชอบโดยรวม 6.67±1.15 ซึ่งสูงกว่าคอมบูชาจากใบกัญชงในอัตราส่วนอื่นๆ แสดงดังตารางที่ 4.9 เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าคะแนนด้านกลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.9 คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากใบกัญชงที่ผ่านการปรับปรุงรสชาติด้วยการผสมน้ำใบกัญชงในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

อัตราส่วนของคอมบูชาจากใบกัญชง : น้ำใบกัญชง	คะแนนทดสอบทางประสาทสัมผัส				
	ความใส	สี	กลิ่น NS	รสชาติ NS	ความชอบโดยรวม NS
1 : 1	6.07±0.64^{c}	6.17±0.38^{b}	6.07±0.37	6.03±0.41	6.30±0.76
1 : 1.5	6.67±1.17^{bc}	6.40±0.81^{ab}	6.27±0.74	6.10±0.76	6.43±0.94
1 : 2	7.00±1.31^{ab}	6.67±1.15^{ab}	6.33±0.80	6.17±0.65	6.53±1.01
1 : 2.5	7.37±1.30^{a}	6.87±1.20^{a}	6.40±0.86	6.20±0.66	6.67±1.15
1 : 3	7.03±1.38^{ab}	6.60±1.04^{ab}	6.27±0.91	6.13±0.68	6.43±1.10

หมายเหตุ

- การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์คอมบูชาแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดสอบ 30 คน
- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- NS (not significant) เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำคอมบูชาจากชาอู่หลงอัตราส่วน 1 : 2.5 และคอมบูชาจากก้านและใบกัญชงอัตราส่วน 1 : 2.5 ซึ่งเป็นอัตราส่วนของคอมบูชาที่ผู้ทดสอบให้คะแนนการยอมรับสูงมาทดสอบทางประสาทสัมผัสอีกครั้ง พบว่าคอมบูชาจากชาอู่หลงมีคะแนนด้านความใส 7.40±1.33 คะแนนด้านสี 7.80±1.19 คะแนนด้านกลิ่น 6.83±1.49 คะแนนด้านรสชาติ 7.67±1.27 และคะแนนความชอบโดยรวม 7.87±1.04 ซึ่งสูงกว่าคอมบูชาจากใบกัญชงและคอมบูชาจากก้านกัญชง ตามลำดับ โดยเฉพาะคะแนนด้านรสชาติและความชอบโดยรวม มีความแตกต่างทางสถิติระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงดังตารางที่ 4.10 รองลงมาเป็นคอมบูชาจากใบกัญชง มีคะแนนด้านความใส 6.97±1.33 คะแนนด้านสี 7.03±1.27 คะแนนด้านกลิ่น 6.50±1.55 คะแนนด้านรสชาติ 6.73±1.78 และคะแนนความชอบโดยรวม 6.83±1.32 เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าคะแนนด้านความใส กลิ่น ไม่แตกต่างกับคอมบูชาจากชาอู่หลง แต่คะแนนด้านสี รสชาติ และความชอบโดยรวมจะแตกต่างทางสถิติกับคอมบูชาจากชาอู่หลง สำหรับคอมบูชาจากก้านใบกัญชง ได้รับคะแนนด้านต่างๆต่ำที่สุด แสดงดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 การทดสอบประสาทสัมผัสของคอมบูชาชนิดต่างๆที่ผ่านการปรับปรุงรสชาติในอัตราส่วนที่ผู้ทดสอบยอมรับ

ตัวอย่างที่ทดสอบ	การทดสอบทางประสาทสัมผัส				
	ความใส	สี	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
คอมบูชาจากชาอู่หลง	7.40±1.33^{a}	7.80±1.19^{a}	6.83±1.49^{a}	7.67±1.27^{a}	7.87±1.04^{a}
คอมบูชาจากก้านกัญชง	7.50±1.43^{a}	7.00±1.31^{b}	6.43±1.52^{a}	6.23±1.63^{b}	6.73±1.34^{b}
คอมบูชาจากใบกัญชง	6.97±1.33^{a}	7.03±1.27^{b}	6.50±1.55^{a}	6.73±1.78^{b}	6.83±1.32^{b}

หมายเหตุ

- การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์คอมบูชาแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดสอบ 30 คน
- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันของผลิตภัณฑ์คอมบูชาแต่ละชนิดในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการหมักคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างวันที่ 0 และ 14 นำไปวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค รวมทั้งทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-Point Hedonic Scale พบว่าคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง มีค่าความเป็นกรด-เบสลดลงภายหลังการหมัก โดยวันที่ 14 พบว่าคอมบูชาจากชาอู่หลงมีความเป็นกรด-เบสต่ำที่สุด 2.34±0.05 รองลงมาคือคอมบูชาจากใบกัญชงมีความเป็นกรด-เบสอยู่ที่ 2.56±0.05 และคอมบูชาจากก้านกัญชงมีความเป็นกรด-เบสอยู่ที่ 2.68±0.03 ปริมาณกรด-เบสที่ลดลงสอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) ที่เพิ่มขึ้น โดยคอมบูชาจากชาอู่หลงมีปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) มีค่าสูงสุดร้อยละ 0.90±0.05 น้ำหนักต่อปริมาตร รองลงมาคือคอมบูชาจากใบกัญชง มีปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) ร้อยละ 0.78±0.02 น้ำหนักต่อปริมาตร และคอมบูชาจากก้านกัญชง ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) ร้อยละ 0.40±0.00 น้ำหนักต่อปริมาตร การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลงภายหลัง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้น ในวันสุดท้ายของการหมัก คอมบูชาจากชาอู่หลงมีค่ามากที่สุดที่ 379.66±0.12 ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือคอมบูชาจากใบกัญชง เท่ากับ 73.40±0.08 ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตร และคอมบูชาจากก้านกัญชง เท่ากับ 34.06±0.17 ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตร ค่าการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า คอมบูชาจากชาอู่หลงมีค่าสูงสุดที่ร้อยละ 99.94±0.05 รองลงมาเป็นคอมบูชาจากใบกัญชงมีค่าที่ร้อยละ 89.65±0.48 และคอมบูชาจากก้านกัญชงมีค่าต่ำที่สุดร้อยละ 69.31±0.80

ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของคอมบูชาที่หมักจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างวันที่ 0 และวันที่ 14 พบว่าคอมบูชาที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ดี คือ คอมบูชาจากใบกัญชง รองลงมาคือ คอมบูชาจากชาอู่หลง โดยคอมบูชาจากใบกัญชงที่หมักเป็นระยะเวลา 14 วัน มีฤทธิ์ยับยั้งทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ มีบริเวณยับยั้งเชื้ออยู่ในช่วง 10.83-12.57 มิลลิเมตร คอมบูชาจากก้านกัญชงที่หมักเป็นระยะเวลา 14 วัน ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคที่นำมาทดสอบ

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากชาอู่หลง คอมบูชาจากก้านกัญชง และคอมบูชาจากใบกัญชงที่ผ่านการหมัก 14 วัน นำมาปรับปรุงรสชาติพบว่า คอมบูชาจากชาอู่หลงอัตราส่วน 1 : 2.5 ได้รับคะแนนด้านรสชาติและความชอบโดยรวมสูงสุด รองลงมาเป็นคอมบูชาจากใบกัญชง สำหรับคอมบูชาจากก้านกัญชงได้รับคะแนนทางประสาทสัมผัสต่ำที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีระหว่างกระบวนการหมักคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง ควรมีการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมัก เนื่องจากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสผู้ทดสอบเสนอแนะว่าคอมบูชาที่หมักจากก้านกัญชง มีกลิ่นแอลกอฮอล์สูงกว่าคอมบูชาที่หมักจากชาอู่หลง และใบกัญชงทำให้มีคะแนนด้านการทดสอบทางประสาทสัมผัสน้อย
2. ควรศึกษาสารประกอบชีวภาพที่มีในก้านกัญชงเพิ่มเติม เนื่องจากการนำก้านกัญชงมาหมักคอมบูชา กระบวนการหมักเกิดขึ้นได้น้อยกว่าการใช้ส่วนใบของกัญชง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐ์สรัล สายชนะ. 2558. แบคทีเรียอะซิติก: สรีรวิทยาและการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. 1:2-5.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2545. เคมีอาหาร. กรุงเทพฯ. โอเดียนสโตร์.

นิสา ร่มส้มซ่า จุฑามาศ พรสันเทียะ ทิพย์วรินทร์ ริมลำดวน และกุณฑิกา เวชกลาง. 2564. คุณสมบัติทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์คอมบูชาที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก. วารสารนเรศวรพะเยา. 14: 76-87.

ปิยวรรณ วัชรอาภาไพบูลย์. 2563. การคัดแยกและจัดจำแนกเชื้อยีสต์และแบคทีเรียอะซิติกจากหัวเชื้อคอมบูชาเพื่อผลิตเครื่องดื่มคอมบูชา. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ปวีณา ยะปัญญา. 2562. ยาน่ารู้. วารสารศูนย์การศึกษาแพทยศาสตร์คลินิก โรงพยาบาลพระปกเกล้า. 3: 258-260.

วันเชิญ โพธาเจริญ ภัทรพร รัตนวารี ทวีศักดิ์ มะลิมาศ และยูโซะ ยามาดะ. 2550. แบคทีเรียผลิตกรดน้ำส้มสายชู. 404-408. รายงานการวิจัยในโครงการ BRT ชุดทองผาภูมิตะวันตก. ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. ปทุมธานี.

Alonso-Esteban, J.I, Torija-Isasa, M.E. and Sanchez-Mata, M.C. 2022. Mineral elements and related antinutrients, in whole and hulled hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds. Journal of Food Composition and Analysis. 109: 104526.

AOAC. 2000. Official methods of analysis of AOAC. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists. United States.

Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature science. 29: 1199-1200.

Body Ecology. 2021. *Saccharomyces boulardii:* The friendly yeast your body loves. [Online]. https://bodyecology.com/articles/saccharomyces-boulardii-benefits/.

Chaplin, M.F. 1986. In Carbohydrate Analysis. Monosaccharides. Oxford. IRL Press.

Chen, C and Pan, Z. 2021. Cannabidiol and terpenes from hemp-ingredients for future foods and processing technologies. Journal of Future Food. 1: 113-127.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chidambara, M. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum)* peel and seed extracts using in vitro models. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50: 81-86.

Costalos, C., Skouteri, V., Gounaris, A., Sevastiadou, S., Triandafilidou, A., Ekonomidou, C., Kontaxaki, F. and Petrochilou, V. 2003. Enteral feeding of premature infants with *Saccharomyces boulardii.* Early Human Development. 74: 89-96.

De Noronha, M.C., Cardoso, R.R., Dos Santos D'Almeida, C.T., Azevedo, L., Maltarollo, V.G., Junior, J.I.R., Ellar, M.R., Cameron, L.C., Ferreira, M.S.L., and De Barros, F.A.R. 2022. Black tea kombucha: physicochemical, microbiological and comparative phenolic profile changes during fermentation, and antimalarial activity. Food Chemistry. 384: 132515.

Desmarchelier, P and Fegan, N. 2006. Pathogens in milk: *Escherichia coli.* Reference Module in Food Science. 60-66.

Dufresne, C and Farnworth, E. 2000. Tea, kombucha, and health: a review. Food Research International. 6: 409-421.

Elmer, G.W and Mcfarland, L. 2001. Biotherapeutic agents in the traditional of infectious diarrhea. Gastroenterology clinics of North America. 30: 837-54.

Erbasan, F. 2018. Brain abscess by *Micrococcus luteus* in a patient with systemic lupus erythematosus: case-based review. Rheumatology International. 38: 2323-2328.

Ivanišová, E., Menhartová, K., Terentjeva, M., and Harangozo, L. 2019. Kombucha tea beverages: microbiological characteristics, antioxidant activity, and photochemical composition. Acta Alimentaria. 48: 324-331.

Jakubczyk, K., Kaldunska, J., Kochaman, J., and Janda, K. 2020. Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red Tea. Antioxidants. 447: 1-15.

Jarrell, J., Cal, T., and Bennett. J.W. 2000.The kombucha consortia of yeast and bacteria. Microbiologist. 14: 167-170.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Jayabalan, R., Malbaša, R.V., Lončar, E.S., Vitas, J.S., and Sathishkumar, M. 2014. A review on kombucha tea-microbiology composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 13: 538-550.

Kerster, D., Schuman, D., Friederike, K., Hebler, N., Hornung, M., Schmauder, H.P., and Marsch, S. 2006. Nanocellulose as innovative polymers in research and application. Advanced Progress in Polymer Science. 205: 49-96.

Liu, Y., Zheng, Y., Yang, T., and Zhou, P. 2022. Functional properties and sensory characteristics of kombucha analogs prepared with alternative materials. Trends in Food Science and Technology. 129: 608-616.

Lynch, K.M., Zannini, E., Wikinson, S., Daenen, L., and Arendt, E.K. 2019. Physiology of acetic acid bacteria and their role in vinegar and fermented beverages. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 18: 587-625.

Marsola, C.D.M., Carvalho-Ferreira, J.P.D., Cunha, L.M., Jaime, P.C., and De Cunha, D.T. 2021. Perceptions of risk and benefit of different foods consumed in brazil and the optimism about chronic diseases. Food Research International. 143: 110227.

Mena, K.D and Gerba, C. 2009. Risk assessment of *Pseudomanas aeruginosa* in water. Rev Environ Contam Toxical. 201: 71-115.

Mohamed, L.A., Tachikawa, H., Gao, X., and Nakanishi, H. 2015. Yeast cell-based analysis of human lactate dehydrogenase isoforms. The Journal of Biochemistry. 158: 467-476.

Nyiew, K.Y., Kwong, P.J., and Yow, Y.Y. 2022. An overview of antimicrobial properties of kombucha. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 21: 1024-1053.

Pollastro, F., Minassi, A., Fresu, L.G. 2018. Cannabis phenolics and their bioactivities. Curr. Med. Chem. 25: 1160-1185.

Pure, A.E and Pure, M.E. 2016. Antioxidant and antibacterial activity of kombucha beverages prepared using banana peel, common nettles and black tea

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น รวมทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

infusions. Applied Food Biotechnology. 2: 125-130.

Rao, R.S., Bhadra, B., and Shivaji, S. 2008. Isolation and characterization of ethanol-producing yeasts from fruits and tree barks. Letters in Applied Microbiology. 47: 19-24.

Rocca, G.D and Salvo, A.D. 2020. Hemp in veterinary medicine: From feed to drug. Frontiers in Veterinary Science. 387: 1-11.

Roche, J. 1998. The history and spread of kombucha. [Online]. http://w3.trib.com_kombu/roche.html.

Sengun, I and Karabiyikli, S. 2011. Importance of acetic acid bacteria in food industry. Food Control. 22: 647-656.

Tanticharakunsiri, W., Mangmool, S., Wongsariya, K., and Ochaikul, D. 2020. Characteristics and upregulation of antioxidant enzymes kitchen mint and oolong tea kombucha beverages. Journal of Food Biotechnology. 13574: 5-7.

Tikka, C., Osuru, H.P., Atluri, N., Raghavulu, P.C.V., Yellapu, N.K., Mannur, I.S., Prasad, U.V., Aluru, S., Varmar K. N., and Bhaskar, M. 2013. Isolation and characterization of ethanol tolerant yeast strains. Bioinformation. 9: 421-425.

Yang, Z.W., Ji, B., Zhou, Z., and Li, B. 2009. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of kombucha tea high-cholesterol fed mice. Journal of Science of Food and Agriculture. 89: 150-156.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารเคมี

1.โซเดียมไฮดรอกไซด์

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร NaoH มีมวลโมเลกุล 39.99 กรัมต่อโมล

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

เมื่อ g คือ น้ำหนักของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

MW คือ มวลโมเลกุลของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (39.99 กรัมต่อโมล)

C คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (0.1 โมลาร์)

V คือ ปริมาตร หน่วยเป็น มิลลิลิตร

ดังนั้น ปริมาณ NaOH ที่ต้องชั่ง (กรัม) = $\frac{0.1 \times 1,000 \times 39.99}{1,000}$

= 3.999 กรัม

ดังนั้นสามารถเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ได้โดยการชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3.999 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรทั้งหมด 1,000 มิลลิลิตร

2.ฟีนอร์ฟทาลีน

ใช้ฟีนอร์ฟทาลีน 1 กรัม ละลายในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร คนจนฟีนอร์ฟทาลีนละลายหมด ปรับปริมาตรด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ให้มีปริมาตรทั้งหมด 100 มิลลิลิตร

3.โซเดียมคลอไรด์

เตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์(NaCl) ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยชั่งโซเดียมคลอไรด์ 0.85 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4.การเตรียมสารละลายโฟลิน (Folin-ciocalteu reagent) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร

นำสารละลายโฟลิน 10 มิลลิลิตร มาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2Co_3) ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

นำสารโซเดียมคาร์บอเนต 7.5 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนปริมาตร 100 มิลลิลิตร

6.การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

-นำกลูโคสอบที่ตู้อบ 70 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

-ชั่งกลูโคสที่ผ่านการอบ 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตร เป็น 100 มิลลิลิตร ได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

-เจือจางสารละลายกลูโคสที่ได้ความเข้มข้นต่างๆโดยใช้น้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA)

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Nutrient Broth (NB) 8 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เติมผงวุ้น (Agar) 18 กรัม ละลายให้เข้ากันและนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งความดันไอ

2.อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract Peptone Dextrose Agar (YPD)

ชั่ง yeast extract 5 กรัม peptone 20 กรัม dextrose 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เติมผงวุ้น (Agar) 18 กรัม ละลายให้เข้ากันและนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งความดันไอ

3.อาหารเลี้ยงเชื้อ Glucose Yeast Extract Calcium Carbonate Agar (GYC)

ชั่ง yeast extract 10 กรัม D – glucose 50 กรัม $CaCO_3$ 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เติมผงวุ้น (Agar) 18 กรัม ละลายให้เข้ากันและนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งความดันไอ

4.อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA)

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Mueller Hinton Broth 21.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เติมผงวุ้น (Agar) 18 กรัม ละลายให้เข้ากันและนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งความดันไอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

แบบประเมินการทดสอบประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์คอมบูชาที่หมักเป็นเวลา 14 วัน

คำแนะนำ : กรุณาทดสอบตัวอย่างตามลำดับที่นำเสนอ แล้วให้คะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดให้

9 = ชอบมากที่สุด 8 = ชอบมาก 7 = ชอบปานกลาง

6 = ชอบเล็กน้อย 5 = เฉยๆ 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย

3 = ไม่ชอบปานกลาง 2 = ไม่ชอบมาก 1 = ไม่ชอบมากที่สุด

*หมายเหตุ : กรุณาบ้วนปากก่อนเริ่มตัวอย่างทุกครั้ง

ตัวอย่าง	ความใส	สี	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
101					
102					
103					

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

4.1การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง

4.1.1ค่าความเป็นกรด-เบสของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง ระหว่างการหมักที่อุณหภูมิห้องในวันที่ 0 และวันที่ 14

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	ความเป็นกรด-เบส					
	คอมบูชาจากชาอู่หลง	Sig (2-tailed)	คอมบูชาจากก้านกัญชง	Sig (2-tailed)	คอมบูชาจากใบกัญชง	Sig (2-tailed)
0	6.79±0.08	0.00	6.04±0.01	0.00	6.56±0.12	0.00
14	2.34±0.05		2.68±0.03		2.56±0.05	

หมายเหตุ

- ค่าความเป็นกรด-เบส แสดงรูปในค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทดลอง 3 ซ้ำ

ความเป็นกรด-เบสของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชงและใบกัญชง

One-way ANOVA : กรด-เบสที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
วันที่0	Between Groups	0.875	2	0.438	63.236	0.000
	Within Groups	0.042	6	0.007		
	Total	0.917	8			
วันที่ 14	Between Groups	0.178	2	0.089	47.786	0.000
	Within Groups	0.011	6	0.002		
	Total	0.190	8			

Grouping information Using the Duncan Method and 95% Confidence

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่ 0

ชนิดของคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05			Grouping
		1	2	3	
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	6.0433			c
คอมบูชาจากใบกัญชง	3		6.5567		b
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3			6.7900	a
Sig.		1.000	1.000	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

วันที่14

ชนิดของคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05			Grouping
		1	2	3	
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	2.3400			c
คอมบูชาจากใบกัญชง	3		2.5600		b
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3			2.6800	a
Sig.		1.000	1.000	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

4.1.2ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) ในคอมบูชาแต่ละชนิด ที่ระยะการหมัก 0 และ 14 วัน

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	ปริมาณร้อยละของกรดอะซิติก					
	คอมบูชาจากชาอู่หลง	Sig (2-tailed)	คอมบูชาจากก้านกัญชง	Sig (2-tailed)	คอมบูชาจากใบกัญชง	Sig (2-tailed)
0	0.04±0.01	0.01	0.02±0.01	0.49	0.08±0.01	0.00
14	0.90±0.05		0.40±0.00		0.78±0.02	

หมายเหตุ

- ค่าปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) แสดงรูปในค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทดลอง 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดอะซิติก) ของคอมบูชา

One-way ANOVA : ปริมาณกรดทั้งหมด(ร้อยละกรดอะซิติก) ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
วันที่0	Between Groups	0.006	2	0.003	33.600	0.001
	Within Groups	0.001	6	0.000		
	Total	0.006	8			
วันที่ 14	Between Groups	1.301	2	0.650	696.631	0.000
	Within Groups	0.006	6	0.001		
	Total	1.306	8			

Grouping information Using the Duncan Method and 95% Confidence

วันที่ 0 Subset for alpha = 0.05

ชนิดของคอมบูชา	N	1	2	3	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	0.0200			c
คอมบูชาจากใบกัญชง	3		0.0400		b
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3			0.0800	a
Sig.		1.000	1.000	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

วันที่14 Subset for alpha = 0.05

ชนิดของคอมบูชา	N	1	2	3	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	0.0403			c
คอมบูชาจากใบกัญชง	3		0.7800		b
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3			0 .9000	a
Sig.		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

4.1.3ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)					
	คอมบูชาจากชาอู่หลง	Sig (2-tailed)	คอมบูชาจากก้านกัญชง	Sig (2-tailed)	คอมบูชาจากใบกัญชง	Sig (2-tailed)
0	94.20±1.16	0.00	97.77±0.25	0.00	95.40±0.35	0.00
14	42.13±0.13		63.57±0.15		45.97±0.46	

หมายเหตุ

- แสดงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของคอมบูชา

One-way ANOVA : ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
วันที่0	Between Groups	19.762	2	9.881	18.931	0.003
	Within Groups	3.132	6	0.522		
	Total	22.894	8			
วันที่ 14	Between Groups	784.179	2	392.090	4662.183	0.000
	Within Groups	0.505	6	0.084		
	Total	784.684	8			

Grouping information Using the Duncan Method and 95% Confidence

วันที่ 0 Subset for alpha = 0.05

ชนิดของคอมบูชา	N	1	2	Grouping
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3	94.2000		b
คอมบูชาจากใบกัญชง	3	95.4000		b
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3		97.7667	a
Sig.		0.088	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่14 Subset for alpha = 0.05

ชนิดของคอมบูชา	N	1	2	3	Grouping
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3	42.1267			c
คอมบูชาจากใบกัญชง	3		45.9667		b
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3			63.5667	a
Sig.		1.000	1.000	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

4.1.4ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 14 วัน

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (µg GAE/ml)					
	คอมบูชาจากชาอู่หลง	Sig (2-tailed)	คอมบูชาจากก้านกัญชง	Sig (2-tailed)	คอมบูชาจากใบกัญชง	Sig (2-tailed)
0	306.97±0.49	0.00	15.03±0.23	0.00	29.03±0.01	0.00
14	379.66±0.12		34.06±0.17		73.40±0.08	

หมายเหตุ

- แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของคอมบูชา

One-way ANOVA : ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
วันที่0	Between Groups	162668.009	2	81334.004	1032157.417	0.003
	Within Groups	0.473	6	0.079		
	Total	162668.482	8			
วันที่ 14	Between Groups	214779.617	2	107389.80	14150926.45	0.000
	Within Groups	0.046	6	0.008		
	Total	214779.662	8			

Grouping information Using the Duncan Method and 95% Confidence

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่ 0

ชนิดของคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05 1	2	3	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	15.0333			c
คอมบูชาจากใบกัญชง	3		29.0333		b
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3			306.9667	a
Sig.		1.000	1.000	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

วันที่14

ชนิดของคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05 1	2	3	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	34.0600			c
คอมบูชาจากใบกัญชง	3		73.3967		b
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3			379.6567	a
Sig.		1.000	1.000	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

4.1.5ค่าการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	กิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ร้อยละ)					
	คอมบูชาจากชาอู่หลง	Sig (2-tailed)	คอมบูชาจากก้านกัญชง	Sig (2-tailed)	คอมบูชาจากใบกัญชง	Sig (2-tailed)
0	96.04±0.03	0.00	26.64±0.17	0.00	57.40±0.26	0.00
14	99.94±0.05		69.31±0.80		89.65±0.48	

หมายเหตุ

- แสดงปริมาณร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของคอมบูชา

One-way ANOVA : การดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
วันที่0	Between Groups	7255.640	2	3278.820	108113.837	0.000
	Within Groups	0.201	6	0.034		
	Total	7255.841	8			
วันที่ 14	Between Groups	1457.524	2	728.762	9277.026	0.000
	Within Groups	0.471	6	0.079		
	Total	1457.995	8			

Grouping information Using the Duncan Method and 95% Confidence

วันที่ 0

ชนิดของคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05 1	2	3	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	26.6433			c
คอมบูชาจากใบกัญชง	3		57.4000		b
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3			96.0433	a
Sig.		1.000	1.000	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

วันที่14

ชนิดของคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05 1	2	3	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	69.3133			c
คอมบูชาจากใบกัญชง	3		89.6533		b
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3			99.9400	a
Sig.		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

4.2 ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง ใบกัญชง

One-way ANOVA : ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของคอมบูชาแต่ละชนิดในวันที่ 0

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
M.luteus	Between Groups	229.007	3	76.336	63.879	0.000
	Within Groups	9.560	8	1.195		
	Total	238.567	11			
S.aureus	Between Groups	127.383	3	42.461	71.495	0.000
	Within Groups	4.751	8	0.594		
	Total	132.134	11			
E.coli	Between Groups	341.109	3	113.703	72.887	0.000
	Within Groups	12.480	8	1.560		
	Total	353.589	11			
P.aeruginosa	Between Groups	65.316	3	21.772	29.655	0.000
	Within Groups	5.873	8	0.734		
	Total	71.189	11			

Grouping information Using the Duncan Method and 95% Confidence

Gram positive : *M.luteus*

		Subset for alpha = 0.05			
ชนิดของคอมบูชา	N	1	2	3	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	6.0000			C
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3		9.3333		b
คอมบูชาจากใบกัญชง	3		10.8333		b
ยาปฏิชีวนะ	3			17.9667	a
Sig.		1.000	0.131	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gram positive : *S.aureus*

		Subset for alpha = 0.05				
ชนิดของคอมบูชา	N	1	2	3	4	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	6.0000				d
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3		7.6567			c
คอมบูชาจากใบกัญชง	3			11.1667		b
ยาปฏิชีวนะ	3				14.4433	a
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Gram negative : *E.coli*

		Subset for alpha = 0.05			
ชนิดของคอมบูชา	N	1	2	3	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	6.0000			c
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3	8.3333			c
คอมบูชาจากใบกัญชง	3		11.233		b
ยาปฏิชีวนะ	3			20.0667	a
Sig.		1.000	0.131	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Gram negative : *P.aeruginosa*

		Subset for alpha = 0.05			
ชนิดของคอมบูชา	N	1	2	3	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	6.0000			c
ยาปฏิชีวนะ	3		8.7667		b
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3		8.9000		b
คอมบูชาจากใบกัญชง	3			12.5667	a
Sig.		1.000	0.131	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

One-way ANOVA : ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของคอมบูชาแต่ละชนิดในวันที่ 14

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
M.luteus	Between Groups	229.007	3	76.336	63.879	0.000
	Within Groups	9.560	8	1.195		
	Total	238.567	11			
S.aureus	Between Groups	127.383	3	42.461	71.495	0.000
	Within Groups	4.751	8	0.594		
	Total	132.134	11			
E.coli	Between Groups	341.109	3	113.703	72.887	0.000
	Within Groups	12.480	8	1.560		
	Total	353.589	11			
P.aeruginosa	Between Groups	65.316	3	21.772	29.655	0.000
	Within Groups	5.873	8	0.734		
	Total	71.189	11			

Grouping information Using the Duncan Method and 95% Confidence

Gram positive : *M.luteus*

		Subset for alpha = 0.05			
ชนิดของคอมบูชา	N	1	2	3	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	6.0000			c
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3		9.3333		b
คอมบูชาจากใบกัญชง	3		10.8333		b
ยาปฏิชีวนะ	3			17.9667	a
Sig.		1.000	0.131	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gram positive : *S.aureus*

		Subset for alpha = 0.05				
ชนิดของคอมบูชา	N	1	2	3	4	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	6.0000				d
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3		7.6567			c
คอมบูชาจากใบกัญชง	3			11.1667		b
ยาปฏิชีวนะ	3				14.4433	a
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Gram negative : *E.coli*

		Subset for alpha = 0.05			
ชนิดของคอมบูชา	N	1	2	3	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	6.0000			c
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3	8.3333			c
คอมบูชาจากใบกัญชง	3		11.2333		b
ยาปฏิชีวนะ	3			20.0667	a
Sig.		0.051	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

Gram negative : *p.aeruginosa*

ชนิดของคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05			Grouping
		1	2	3	
คอมบูชาจากก้านกัญชง	3	6.0000			c
ยาปฏิชีวนะ	3		8.7667		b
คอมบูชาจากชาอู่หลง	3		8.9000		b
คอมบูชาจากใบกัญชง	3			12.5667	a
Sig.		1.000	0.854	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากชาอู่หลง ก้านกัญชง และใบกัญชง

One-way ANOVA : การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากชาอู่หลงผ่านการปรับปรุงรสชาติด้วยการผสมน้ำชาอู่หลงในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ด้านความใส	Between Groups	41.133	4	10.283	5.640	0.000
	Within Groups	264.367	145	1.823		
	Total	305.500	149			
ด้านสี	Between Groups	57.827	4	14.457	8.251	0.000
	Within Groups	254.067	145	1.752		
	Total	311.893	149			
ด้านกลิ่น	Between Groups	7.240	4	1.810	1.298	0.274
	Within Groups	202.233	145	1.395		
	Total	209.473	149			
ด้านรสชาติ	Between Groups	23.240	4	5.810	4.869	0.001
	Within Groups	173.033	145	1.193		
	Total	196.273	149			
ด้านความชอบโดยรวม	Between Groups	24.960	4	6.240	3.600	0.008
	Within Groups	251.333	145	1.733		
	Total	276.293	149			

Grouping information Using the Duncan Method and 95% Confidence

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านความใส

อัตราส่วนคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05 1	2	3	Grouping
1:1	30	6.0000			c
1:2	30	6.3333			c
1:1.5	30	6.5667	6.5667		b
1:3	30		7.2333	7.2333	ab
1:2.5	30			7.3667	a
Sig.		0.127	0.058	0.703	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

ด้านสี

อัตราส่วนคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05 1	2	3	Grouping
1:1	30	6.0333			c
1:2	30	6.1333			c
1:1.5	30	6.5333	6.5333		b
1:3	30		7.0667	7.0667	a
1:2.5	30			7.7000	a
Sig.		0.170	0.121	0.066	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านกลิ่น

		Subset for alpha = 0.05	
อัตราส่วนคอมบูชา	N	1	Grouping
1:1	30	6.2667	a
1:3	30	6.3000	a
1:1.5	30	6.3667	a
1:2	30	6.7000	a
1:2.5	30	6.8000	a
Sig.		0.123	a

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

ด้านรสชาติ

		Subset for alpha = 0.05			
อัตราส่วนคอมบูชา	N	1	2	3	Grouping
1:1	30	6.0667			c
1:2	30	6.4333	6.4333		bc
1:1.5	30	6.6333	6.6333		bc
1:3	30		6.8667	6.8667	ab
1:2.5	30			7.2333	a
Sig.		0.059	0.150	0.196	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านความชอบโดยรวม Subset for alpha = 0.05

อัตราส่วนคอมบูชา	N	1	2	Grouping
1:1	30	6.3000		b
1:1.5	30	6.5000		b
1:2	30	6.7333		b
1:3	30	6.8333	6.8333	ab
1:2.5	30		7.5000	a
Sig.		0.156	0.052	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

One-way ANOVA : การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากก้านกัญชงที่ผ่านการปรับปรุงรสชาติด้วยการผสมน้ำก้านกัญชงในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ด้านความใส	Between Groups	8.240	4	2.060	1.344	0.257
	Within Groups	222.300	145	1.533		
	Total	230.540	149			
ด้านสี	Between Groups	9.693	4	2.423	1.735	0.145
	Within Groups	202.500	145	1.397		
	Total	212.193	149			
ด้านกลิ่น	Between Groups	3.360	4	0.840	0.483	0.749
	Within Groups	252.433	145	1.741		
	Total	255.793	149			
ด้านรสชาติ	Between Groups	3.227	4	0.807	0.754	0.557
	Within Groups	155.067	145	1.069		
	Total	158.293	149			
ด้านความชอบโดยรวม	Between Groups	7.667	4	1.917	1.355	0.253
	Within Groups	205.167	145	1.415		
	Total	212.833	149			

Grouping information Using the Duncan Method and 95% Confidence

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านความใส

		Subset for alpha = 0.05	
อัตราส่วนคอมบูชา	N	1	Grouping
1:1.5	30	6.2000	a
1:3	30	6.4667	a
1:1	30	6.6667	a
1:2	30	6.6667	a
1:2.5	30	6.9000	a
Sig.		0.051	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านสี

		Subset for alpha = 0.05	
อัตราส่วนคอมบูชา	N	1	Grouping
1:1	30	6.3000	a
1:1.5	30	6.3333	a
1:3	30	6.6000	a
1:2	30	6.7667	a
1:2.5	30	6.9667	a
Sig.		0.052	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านกลิ่น

		Subset for alpha = 0.05	
อัตราส่วนคอมบูชา	N	1	Grouping
1:1	30	6.0667	a
1:1.5	30	6.1333	a
1:3	30	6.3333	a
1:2	30	6.3667	a
1:2.5	30	6.4667	a
Sig.		0.305	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

ด้านรสชาติ

		Subset for alpha = 0.05	
อัตราส่วนคอมบูชา	N	1	Grouping
1:1.5	30	6.0667	a
1:1	30	6.1667	a
1:2	30	6.1667	a
1:3	30	6.2333	a
1:2.5	30	6.5000	a
Sig.		0.153	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านความชอบโดยรวม

		Subset for alpha = 0.05	
อัตราส่วนคอมบูชา	N	1	Grouping
1:1	30	6.1667	a
1:1.5	30	6.2000	a
1:2	30	6.2333	a
1:3	30	6.4667	a
1:2.5	30	6.7667	a
Sig.		0.083	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

One-way ANOVA : การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากใบกัญชงที่ผ่านการปรับปรุงรสชาติด้วยการผสมน้ำใบกัญชงในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ด้านความใส	Between Groups	29.027	4	7.257	5.096	0.001
	Within Groups	206.467	145	1.424		
	Total	235.493	149			
ด้านสี	Between Groups	8.560	4	2.140	2.304	0.061
	Within Groups	134.700	145	0.929		
	Total	143.260	149			
ด้านกลิ่น	Between Groups	1.867	4	0.467	0.811	0.520
	Within Groups	83.467	145	0.576		
	Total	85.333	149			
ด้านรสชาติ	Between Groups	0.493	4	0.123	0.298	0.879
	Within Groups	60.100	145	0.414		
	Total	60.593	149			
ด้านความชอบโดยรวม	Between Groups	2.227	4	0.557	0.548	0.700
	Within Groups	147.167	145	1.015		
	Total	149.393	149			

Grouping information Using the Duncan Method and 95% Confidence

ด้านความใส		Subset for alpha = 0.05			
อัตราส่วนคอมบูชา	N	1	2	3	Grouping
1:1	30	6.0667			c
1:1.5	30	6.6667	6.6667		bc
1:2	30		7.0000	7.0000	ab
1:3	30		7.0333	7.0333	ab
1:2.5	30			7.3667	a
Sig.		0.053	0.266	0.266	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านสี

		Subset for alpha = 0.05		
อัตราส่วนคอมบูชา	N	1	2	Grouping
1:1	30	6.1667		b
1:1.5	30	6.4000	6.4000	ab
1:3	30	6.6000	6.6000	ab
1:2	30	6.6667	6.6667	ab
1:2.5	30		6.8667	a
Sig.		0.068	0.089	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

ด้านกลิ่น

		Subset for alpha = 0.05	
อัตราส่วนคอมบูชา	N	1	Grouping
1:1	30	6.0667	a
1:1.5	30	6.2667	a
1:3	30	6.2667	a
1:2	30	6.3333	a
1:2.5	30	6.4000	a
Sig.		0.133	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านรสชาติ

อัตราส่วนคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	Grouping
1:1	30	6.0333	a
1:1.5	30	6.1000	a
1:3	30	6.1333	a
1:2	30	6.1667	a
1:2.5	30	6.2000	a
Sig.		0.382	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

ด้านความชอบโดยรวม

อัตราส่วนคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	Grouping
1:1	30	6.3000	a
1:1.5	30	6.4333	a
1:3	30	6.4333	a
1:2	30	6.5333	a
1:2.5	30	6.6667	a
Sig.		0.216	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของคอมบูชา ชนิดต่างๆที่ผ่านการปรับปรุงรสชาติในอัตราส่วนที่ผู้บริโภคยอมรับ

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ด้านความใส	Between Groups	4.822	2	2.411	1.298	0.278
	Within Groups	161.667	87	1.858		
	Total	166.489	89			
ด้านสี	Between Groups	12.289	2	6.144	3.880	0.024
	Within Groups	137.767	87	1.584		
	Total	150.056	89			
ด้านกลิ่น	Between Groups	2.756	2	1.378	0.596	0.553
	Within Groups	201.033	87	2.311		
	Total	203.789	89			
ด้านรสชาติ	Between Groups	31.756	2	15.878	6.398	0.003
	Within Groups	215.900	87	2.482		
	Total	247.656	89			
ด้านความชอบโดยรวม	Between Groups	23.622	2	11.811	7.697	0.001
	Within Groups	133.500	87	1.534		
	Total	157.122	89			

Grouping information Using the Duncan Method and 95% Confidence

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านความใส

ชนิดของคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	Grouping
คอมบูชาจากใบกัญชง	30	6.9667	a
คอมบูชาจากชาอู่หลง	30	7.4000	a
คอมบูชาจากก้านกัญชง	30	7.5000	a
Sig.		0.157	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

ด้านสี

ชนิดของคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	30	7.0000		b
คอมบูชาจากใบกัญชง	30	7.0333		b
คอมบูชาจากชาอู่หลง	30		7.8000	a
Sig.		0.919	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านกลิ่น

ชนิดของคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05 1	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	30	6.4333	a
คอมบูชาจากใบกัญชง	30	6.5000	a
คอมบูชาจากชาอู่หลง	30	6.8333	a
Sig.		0.342	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

ด้านรสชาติ

ชนิดของคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05 1	2	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	30	6.2333		b
คอมบูชาจากใบกัญชง	30	6.7333		b
คอมบูชาจากชาอู่หลง	30		7.6667	a
Sig.		0.222	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

ด้านความชอบโดยรวม

ชนิดของคอมบูชา	N	Subset for alpha = 0.05 1	2	Grouping
คอมบูชาจากก้านกัญชง	30	6.7333		b
คอมบูชาจากใบกัญชง	30	6.8333		b
คอมบูชาจากก้านกัญชง	30		7.8667	a
Sig.		0.755	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ

วันที่ 26 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2566

ข้าพเจ้า นางสาวกนกพร ปิ่นรัตน์ รหัสประจำตัว 62050564
นางสาวจินตพร เปลี่ยนประเสริฐ รหัสประจำตัว 62050868

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของเครื่องดื่มคอมบูชาที่เตรียมจากใบและก้านกัญชง

ชื่อภาษาอังกฤษ Antioxidant and antibacterial activity of kombucha beverages prepared using leaf and branch of hemp

ปีการศึกษา 2565

เป็นงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้วและได้แนบเอกสารการตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 5.09 %

ลงชื่อ ..... ลงชื่อ .....
(นางสาวกนกพร ปิ่นรัตน์) (นางสาวจินตพร เปลี่ยนประเสริฐ)
นักศึกษา นักศึกษา

ข้าพเจ้า รศ.ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษของนักศึกษาข้างต้นแล้ว ขอรับรองว่าเป็นงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์

ลงชื่อ.....

(รศ.ดวงใจ โอชัยกุล)
อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้