ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาคอมบูชา

ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND SENSORY TESTING OF KOMBUCHA TEA

กรรักษ์ ฉิมกรด
ชรินทร์รัตน์ ชูกองปาน
นราทิพย์ วงศ์ไทย

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาคอมบูชา

ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND SENSORY TESTING OF KOMBUCHA TEA

กรรักษ์ ฉิมกรด
ชรินทร์รัตน์ ซูกองปาน
นราทิพย์ วงศ์ไทย

เลขหมู่ 149056
เลขทะเบียน 27 ธ.ค. 2560
วัน,เดือน,ปี
b.1289949140
i.

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND SENSORY TESTING OF KOMBUCHA TEA

KORNRAK CHIMKROD
CHARINRAT SUKONGPAN
NARATHIP WONGTHAI

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY PROGRAM)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และทดสอบทางประสาทสัมผัส Antimicrobial Activity and Sensory Testing of Kombucha Tea
นักศึกษา	กรรักษ์ ฉิมกรด รหัสนักศึกษา 55051229
	ชรินทร์รัตน์ ซูกองปาน รหัสนักศึกษา 55051257
	นราทิพย์ วงศ์ไทย รหัสนักศึกษา 55051304
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดวงใจ โอชัยกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต(จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ลินจง สุขลำภู ประธานกรรมการ	
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการ	
รศ.ดวงใจ โอชัยกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชา		
ผู้สัมมนา	นางสาวกรรักษ์	ฉิมกรด	รหัสนักศึกษา 55051229
	นางสาวชรินทร์รัตน์	ซูกองปาน	รหัสนักศึกษา 55051257
	นางสาวนราทิพย์	วงศ์ไทย	รหัสนักศึกษา 55051304
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2558		
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดวงใจ โอชัยกุล		

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคและทดสอบทางประสาทสัมผัสจากคอมบูชาที่หมักจากชาดำ ชาเขียวและชาขิง มีความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีน้ำตาลซูโครสร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร หมักเป็นเวลานาน 20 วัน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าค่าพีเอชลดลงตลอดระยะเวลาการหมักสัมพันธ์กับปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก) เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก โดยชาดำ ชาเขียวและชาขิง มีปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก) ร้อยละ 0.36 ± 0.00 0.11 ± 0.01 และ 0.29 ± 0.02 ตามลำดับ จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค พบว่าคอมบูชาจากชาชนิดต่างๆมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Vibrio parahaemolyticus* TISTR 2593 สูงกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสตั้งแต่ 23.47 ± 6.49 ถึง 30.95 ± 5.71 มิลลิเมตร โดยคอมบูชาจากชาเขียวมีเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (30.95 ± 5.71 มิลลิเมตร) สูงกว่าชาดำและชาขิง คอมบูชาจากการหมักจากชาทั้งสามชนิดไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans* ATCC 90028 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาทั้งสามชนิด พบว่าคอมบูชาจากชาดำหมักเป็นเวลา 10 วัน หลังปรับปรุงรสชาติมีระดับความพึงพอใจสูงสุด

คำสำคัญ: การทดสอบทางประสาทสัมผัส คอมบูชา ชาหมัก และฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antimicrobial Activity and Sensory Testing of Kombucha Tea
Students	MISS KORNRAK CHIMKROD MISS CHARINRAT SUKONGPAN MISS NARATHIP WONGTHAI
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2015
Advisor	Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul

Abstract

This research was studied on antimicrobial activity and sensory testing of kombucha tea. Kombucha tea made from black tea, green tea and ginger tea 4% (w/v) with sucrose 15% (w/v). Sucrose was a carbon source for microorganism growth, through 20 days at room temperature. In according to experiment, the pH decreased regularly while acetic acid increased during the fermentation. Black tea, green tea and ginger tea gave the high acetic acid potential was 0.36 ± 0.00% 0.11 ± 0.01% and 0.29 ± 0.02%, respectively. Antimicrobial activity found green kombucha tea have antimicrobial activity more than black kombucha tea and ginger kombucha tea. Green kombucha tea had the highest effective antibacterial activity especially *Vibrio parahaemolyticus* TISTR2593. It shown inhibition zone is 30.95 ± 5.71 mm. All types of Kombucha tea cannot against *Candida albicans* ATCC 90028. Sensory testing found 10 days fermented black kombucha tea had the most satisfaction.

Keywords : Antimicrobial Activity, Fermented tea, Kombucha Tea and Sensory Testing

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้ไม่อาจเสร็จสมบูรณ์ได้ถ้าปราศจากคำแนะนำด้านการทดลอง และชี้แนวทางในการแก้ปัญหาจาก รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ทำให้โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดีผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์จากท่าน และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ขอขอบคุณ เพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ ทุกคนกับความช่วยเหลือในทุกๆด้าน เป็นที่ปรึกษา เป็นกำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา และขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ธุรการและเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงาน และการเบิกจ่ายอุปกรณ์และสารเคมีแก่ผู้วิจัยเป็นอย่างดี และที่สำคัญ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวด้วยความคารพยิ่ง ที่ให้โอกาสในการศึกษาให้ความช่วยเหลือ ชี้แนะ และเป็นกำลังใจสำคัญตลอดมา

คุณความดีใดๆที่เกิดขึ้นจากโครงงานพิเศษฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ บิดา มารดา ครอบครัว ครูบาอาจารย์ที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ตลอดจนกัลยาณมิตรทั้งหลาย

กรรักษ์ ฉิมกรด
ชรินทร์รัตน์ ซูกองปาน
นราทิพย์ วงศ์ไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	จ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ความเป็นมาของคอมบูชา	3
2.2 จุลินทรีย์ที่พบในคอมบูชา	4
2.2.1 แบคทีเรียอะซิติก	4
2.2.2 ยีสต์	6
2.3 ปฏิกิริยาการเกิดชาหมักคอมบูชา	7
2.4 กระบวนการผลิตชาหมักคอมบูชา	8
2.5 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของแบคทีเรียเซลลูโลส	10
2.6 เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญ	11
2.7 ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Agar well diffusion	16
2.8 ประโยชน์ของคอมบูชา	17
2.9 เอกสารที่เกี่ยวข้อง	17
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน	20
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	20
3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์	20
3.1.2 วัตถุดิบ	20
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์	20
3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	20
3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

3.2 ขั้นตอนในการดำเนินงาน 22

3.2.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักคอมบูชา โดยศึกษาชนิดของชา 22

3.2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อ 22

3.2.1.2 ศึกษาชนิดของชาในการหมักคอมบูชา 22

3.2.1.3 การวิเคราะห์ 22

1. พีเอช(pH) 22

2. ปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก) 22

3. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลซูโครสโดยดัดแปลงจาก 23

วิธีดีเอนเอส (DNS method) 23

4. การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง 23

5. การวิเคราะห์ผลผลิตเซลลูโลส (yield of cellulose) 23

3.2.2 การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งระหว่างการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค 24

จากชาทั้งสามชนิดโดยวิธี Agar well diffusion

3.2.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาหมักทั้งสามชนิด 25

3.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ 25

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง 26

4.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักคอมบูชา โดยศึกษาชนิด 26

ของชาจากการวิเคราะห์ของค่าต่างๆ

4.1.1 ผลของค่าพีเอช 26

4.1.2 ผลของค่าปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก) 26

4.1.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลซูโครสโดยดัดแปลงจากวิธีดีเอนเอส 27

4.1.4 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง 27

4.1.5 ผลการวิเคราะห์ผลผลิตเซลลูโลส 27

4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค 32

4.2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ 32

ของน้ำหมักคอมบูชาโดยวิธี Agar well diffusion

4.3 การทดสอบคุณภาพของชาหมักคอมบูชาโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส 40

4.3.1 การทดสอบทางประสาทสัมผัสก่อนปรับปรุงรสชาติ 40

4.3.2 การทดสอบทางประสาทสัมผัสหลังปรับปรุงรสชาติ 42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 43
เอกสารอ้างอิง 44
ภาคผนวก ก 47
ภาคผนวก ข 50
ภาคผนวก ค 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ค่าพีเอชของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิง ที่ความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน	28
4.2 ปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปอะซิติก) ของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิง ที่ความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน	29
4.3 ปริมาณน้ำตาลซูโครสของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิง ที่ความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน	30
4.4 น้ำหนักเซลล์แห้งของหัวเชื้อในการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิง ที่ความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน	31
4.5 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในชา 3 ชนิด	39
4.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาที่หมักจากชาดำก่อนปรับปรุงรสชาติ ในวันที่ 0 5 10 15 และ 20 ของการหมัก	40
4.7 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาที่หมักจากชาเขียวก่อนปรับปรุงรสชาติ ในวันที่ 0 5 10 15 และ 20 ของการหมัก	41
4.8 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาที่หมักจากชาขิงก่อนปรับปรุงรสชาติ ในวันที่ 0 5 10 15 และ 20 ของการหมัก	41
4.9 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาหลังการปรับปรุงรสชาติ	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส	5
2.2 แสดงลักษณะของเชื้อ *Acetobacter* และลักษณะเส้นใย	6
2.3 เซลล์ของ *Saccharomyces cerevisiae*	7
2.4 กระบวนการผลิตเครื่องดื่มชาหมัก	9
2.5 แสดงลักษณะของเชื้อ *Candida albican* ส่องภาพใต้กล้องจุลทรรศน์	11
2.6 แสดงลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus*	13
2.7 แสดงลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli*	13
2.8 แสดงลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	14
2.9 แสดงลักษณะของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	15
2.10 แสดงตำแหน่งที่จะวางแผ่นกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 มิลลิเมตร	17
4.1 ค่าพีเอชของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิงที่ความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 20 วัน	28
4.2 รูปแสดงปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปของกรดอะซิติก) ของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิงที่ความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน	29
4.3 รูปแสดงปริมาณน้ำตาลซูโครสของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิงที่ความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตรที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน	30
4.4 น้ำหนักเซลล์แห้งของหัวเชื้อในการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิงที่ความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตรที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 20 วัน	31
4.5 ฤทธิ์ของคอมบูชาที่ได้จากการหมักชาดำ ชาเขียว และชาขิงต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *P. aeruginosa* *V. parahaemolyticus* *E. coli* *S. aureus* และ *C. albican* ตามลำดับ ในวันที่ 0	34
4.6 ฤทธิ์ของคอมบูชาที่ได้จากการหมักชาดำ ชาเขียว และชาขิงต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *P. aeruginosa* *V. parahaemolyticus* *E. coli* *S. aureus* และ *C. albican* ตามลำดับ ในวันที่ 5	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.7	ฤทธิ์ของคอมบูชาที่ได้จากการหมักชาดำ ชาเขียว และชาขิงต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *P. aeruginosa* *V. parahaemolyticus* *E. coli* *S. aureus* และ *C. albican* ตามลำดับ ในวันที่ 10	36
4.8	ฤทธิ์ของคอมบูชาที่ได้จากการหมักชาดำ ชาเขียว และชาขิงต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *P. aeruginosa* *V. parahaemolyticus* *E. coli* *S. aureus* และ *C. albican* ตามลำดับ ในวันที่ 15	37
4.9	ฤทธิ์ของคอมบูชาที่ได้จกการหมักชาดำ ชาเขียว และชาขิงต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* *P. aeruginosa* *V. parahaemolyticus* *S. aureus* และ *C. albican* ตามลำดับ ในวันที่ 20	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญ

คอมบูชาจะเป็นการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกันระหว่างแบคทีเรีย เช่น *Acetobacter xylinum* และ *Bacterium gluconicum* กับยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ เช่น *Zygosaccharomyces kombuchensis Pichia fluxum* และ *Saccharomyces* sp. (Kurtzman และคณะ, 2001) โดยจะมีส่วนประกอบแตกต่างกันออกไปตามความหลากหลายทางสปีชีร์ของยีสต์และเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นนั้นๆ (Teoh และคณะ, 2004) น้ำหมักที่ได้จะเรียกว่า tea fungus รสชาติของชาหมักจะมีรสหวานเล็กน้อยและมีรสออกเปรี้ยวคล้ายกับเครื่องดื่มไซเดอร์ เนื่องจากมีส่วนผสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และแอลกอฮอล์ปนอยู่ด้วย นอกจากนี้ยังมีสารให้กลิ่นรสที่สำคัญในเครื่องดื่มชาหมัก เช่น ฟรุกโตส กรดอะซิติก และกรดกลูโคนิก นอกจากนี้ยังพบว่ามีเอทิลกลูโคนิก กรดออกซาลิค กรดแซคคาริก กรดคีโตกลูโคนิกและกรดคาร์บอนิก ตลอดจนวิตามินและเกลือแร่ต่างๆที่จำเป็นต่อร่างกายอีกหลายชนิด น้ำหมักที่ได้นี้มีประโยชน์มากมาย เช่น มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ช่วยควบคุมแก๊สที่เกิดในกระเพาะอาหาร ช่วยในการทำงานของลำไส้และต่อมต่างๆ ช่วยบรรเทาอาการของโรคข้อต่อ โรคเก๊าและโรคริดสีดวงทวาร ช่วยลดคลอเลสเตอรอลในหลอดเลือด ช่วยขับสารพิษ ช่วยบรรเทาอาการของโรคเบาหวานและลดปัญหาริ้วรอยต่างๆ และน้ำหมักนี้ได้ถูกอ้างว่าเป็นยาป้องกันโรคและเป็นสิ่งที่มีประโยชน์ในการบำบัดรักษาโรคของมนุษย์ เช่น การต้านมะเร็ง (Mayser และคณะ, 1995 ; Cvetkovic และคณะ, 2008)

ดังนั้นโครงงานพิเศษนี้จึงได้สนใจศึกษาการหมักคอมบูชาจากชาดำ ชาเขียว ชาขิง และนำมาศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคต่างๆ เช่น *Vibrio parahaemolyticus Staphylococcus aureus Escherichia coli Pseudomonas aeruginosa* และ *Candida albicans* นอกจากนี้ยังมีการนำผลิตภัณฑ์คอมบูชาที่ได้มาทดสอบประสาทสัมผัสและปรับปรุงรสชาติเพื่อให้เป็นที่นิยมของผู้บริโภค

2. วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

โครงงานพิเศษนี้มีจุดประสงค์เพื่อนำชาชนิดต่างๆ ได้แก่ ชาดำ ชาเขียว รวมทั้งขิงมาเป็นวัตถุดิบในการหมักคอมบูชา หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 วัน นำคอมบูชาที่หมักได้มาทำการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคโดยใช้วิธี agar well diffusion เพื่อศึกษาชนิดของชาและการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติกและพีเอชรวมทั้งทดสอบระยะเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักที่เหมาะสมที่ทำให้ชาหมักมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคที่นำมาทดสอบได้ดี จากนั้นนำชาที่หมักได้ทดสอบทางประสาทสัมผัสและทำการปรับปรุงรสชาติให้มีความเหมาะสมและเป็นที่นิยมในกลุ่มผู้บริโภค

3. ขอบเขตงานวิจัย

หมักชาสามชนิด คือ ชาดำ ชาเขียว และชาขิง ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 วัน เก็บตัวอย่างชาหมักในวันที่ 0 5 10 15 และ 20 นำมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและทางเคมี เช่น ค่าพีเอช ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติก น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณซูโครสและศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคโดยวิธี Agar well diffusion รวมทั้งศึกษาการทดสอบทางประสาทสัมผัสของชาหมักที่ได้

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

จากการศึกษาทำให้รู้ว่าชาหมักชนิดใดมีความเหมาะสมในการหมักคอมบูชา ซึ่งคอมบูชาที่ได้นอกจากจะเป็นทางเลือกใหม่ของเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพแล้วยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค และสามารถพัฒนาเป็นเครื่องดื่มในระดับทางการค้าได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความเป็นมาของคอมบูชา (Kombucha)

ในสมัยราชวงศ์จิ้น ราว พ.ศ. 212 ในสมัยนั้นเรียก น้ำหมักชีวภาพชนิดนี้ว่า hongchajun หรือชาเห็ดแดง ซึ่งเชื่อกันว่าเป็น ชาอมฤต หรือ ชาอมตะ ซึ่งเกิดจากการหมักชาจนเกิดเป็นวุ้นขึ้น จากนั้นความรู้นี้ได้ต่อยอดและได้เผยแพร่ไปยังประเทศเกาหลีใน ค.ศ. 414 โดยนายแพทย์คอมบู (Kom-Bu) ซึ่งได้นำชาหมักถวายแก่พระจักรพรรดิแห่งญี่ปุ่นโดยอ้างว่า สามารถรักษาได้สารพัดโรค จึงถูกเรียกตั้งแต่นั้นเป็นต้นมาว่า ชาคอมบูหรือ Kombu-cha ในขณะเดียวกันความเชื่อนี้ได้แผ่ขยายไปยังอินเดียและรัสเซีย ในส่วนประเทศรัสเซียเองก็เรียกน้ำหมักชาชนิดนี้ว่า Kombucha เช่นกัน และได้รับความนิยมในหมู่ผู้สนใจด้านแพทย์ทางเลือกจนได้รับความนิยมอย่างสูงในยุโรป ในฐานะชาหมักชีวภาพเพื่อสุขภาพและได้แผ่ขยายออกไปจนถึงประเทศสหรัฐอเมริกา โดยนำแอปเปิ้ลมาหมักและปรากฏผลดีจนเป็นที่นิยมแพร่หลายในชื่อว่า แอปเปิ้ลไซเดอร์

รสชาติของชาหมักจะมีรสหวานเล็กน้อยและมีรสออกเปรี้ยวคล้ายกับเครื่องดื่มไซเดอร์ (Cider) เนื่องจากมีส่วนผสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และแอลกอฮอล์ปนอยู่ด้วยและมีสารให้กลิ่นรสที่สำคัญในเครื่องดื่มชาหมัก คือ ฟรุกโตส กรดอะซิติก และกรดกลูโคนิก นอกจากนี้ยังพบว่ามี ethyl-gluconate oxalic acid saccharic acid ketoglyconic acid succinic acid และ carbonic acid เล็กน้อย ตลอดจนมีวิตามินและเกลือแร่ต่างๆที่จำเป็นต่อร่างกายอีกหลายชนิด

คุณภาพของใบชาที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบจะมีผลต่อสรรพคุณของชาหมัก เนื่องจากใบชาแต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบสำคัญทางเคมีที่สกัดได้แตกต่างกัน เช่น ปริมาณ caffeine theophylline theobromine และ polyphenol โดยเฉพาะสารสำคัญในกลุ่ม polyphenol คือ catechins ซึ่งมีสมบัติเป็น bacteriostatic สามารถช่วยยับยั้งการเจริญของ *Streptococcus mutans* และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอื่นๆ ในชาเขียวพบว่ามีปริมาณ catechins มากถึงร้อยละ 34 แต่ในชาดำมีเพียงร้อยละ 4.2 ส่วนองค์ประกอบอื่นๆ ไม่มีความแตกต่างกันมากนัก ยกเว้น thearubingens ที่มีในชาดำมากถึงร้อยละ 17 แต่ไม่พบในชาเขียว (Stag และ Millin, 1975) ทำให้คุณภาพชาหมักที่ได้มีคุณภาพแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 จุลินทรีย์ที่พบในชาหมักคอมบูชา (พรรัตน์, 2550)

กลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่มีบทบาทและความสำคัญในการหมักคอมบูชา คือ กลุ่มแบคทีเรียและยีสต์ โดยกลุ่มแบคทีเรียที่พบเป็นชนิดต้องการอากาศในการเจริญเติบโตและสามารถสร้างเซลลูโลสที่มีลักษณะเป็นแผ่นคล้ายเห็ด กลุ่มยีสต์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมัก คือ กลุ่มยีสต์ที่สามารถผลิตแอลกอฮอล์ (Greenwalt และคณะ, 2000 ; Liu และคณะ, 1996) และยังมีงานวิจัยที่ได้ทำการศึกษาการแยก เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตชาหมักจากแหล่งผลิตในประเทศไต้หวัน 3 แหล่ง (Liu และคณะ, 1996) ได้แก่ Taipei Hsinchu และ Chiayi พบว่ามีกลุ่มแบคทีเรีย *Acetobacter* และยีสต์ เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มที่ได้มาจำแนกโดยอาศัยความแตกต่างของคุณสมบัติทางชีวเคมีและทางสรีรวิทยาพบว่า เป็นแบคทีเรียกลุ่ม *A. aceti A. xylinum* และ *A. pasteurianus* ซึ่งมีคุณสมบัติเฉพาะคือสามารถผลิตเซลลูโลสได้ ส่วนยีสต์ที่จำแนกได้ คือ *Saccharomyces cerevisiae*และ *Zygosaccharomyces balilii* ยีสต์กลุ่มนี้ล้วนแต่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์และอาหารหมัก ซึ่งมีคุณสมบัติเด่นคือ สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเป็นกรดสูงและมีน้ำตาลสูง นอกจากนี้อาจพบยีสต์ชนิดอื่นบ้างแต่ไม่ค่อยมีความสำคัญกับกระบวนการหมัก ได้แก่ *Candida tropicalis Debaryomyce hansenii Torulopsis famata* และ *Pichia membranefacience* เป็นต้น

2.2.1 แบคทีเรียเซลลูโลส (Bacterial cellulose)

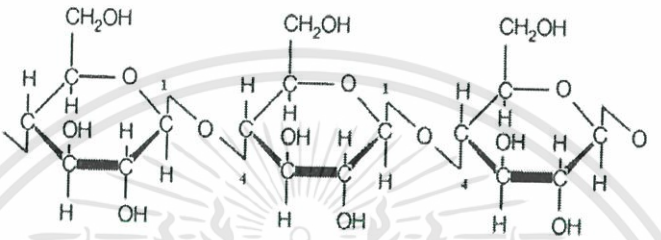
แบคทีเรียเซลลูโลสได้ถูกค้นพบเมื่อปี ค.ศ. 1886 โดย Brown พบว่า แบคทีเรียสามารถผลิตเซลลูโลสได้ และเรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า Bacterial Cellulose (BC) Producer ซึ่งแบคทีเรียในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Acetobacter Achomobacter Aerobacter Agrobacterium Alcaligenes Azotobacter Pseudomonas Rhizobium* และ *Sarcina* (Deinema และ Zevenhuizen, 1971)

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย (Bacterial cellulose) เป็นชีววัสดุธรรมชาติที่ได้รับความสนใจและศึกษากันอย่างแพร่หลาย รู้จักกันดีในชื่อ Nata de Coco หรือ วุ้นมะพร้าว หรือ วุ้นสวรรค์ ผลิตจากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* โครงสร้างประกอบด้วยหน่วยย่อยที่เรียกว่า ไมโครไฟบริล (microfibril) ซึ่งประกอบด้วยหน่วยย่อยของกลูโคสประมาณ 2,000 - 18,000 หน่วย มีขนาดเล็กกว่าเส้นใยของพืชชั้นสูง และเส้นใยสังเคราะห์ประมาณ 10 - 1,000 เท่า และ 100 เท่า ตามลำดับ มีความบริสุทธิ์สูง มีปริมาณเซลลูโลสต่อน้ำหนักเปียกประมาณร้อยละ 1.0 ซึ่งมากกว่าเซลลูโลสที่ได้จากพืช

เซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดโฮโมโพลีแซคคาไรด์เชิงเส้นประกอบด้วยหน่วยย่อยของกลูโคส เชื่อมต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะ β-1,4 glycosidic จากการศึกษาโดยใช้การหักเหรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction) โมเลกุลของเซลลูโลสอยู่ในลักษณะเป็นเส้นยาวเรียงขนานกัน แต่ละเส้นจะเชื่อมกันด้วยพันธะไฮโดรเจน รวมกันอยู่เป็นมัด มีลักษณะเป็นเส้นใย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เล็กๆ เรียกว่า ไฟบริล (fibril) (Haigler, 1985) เซลลูโลสจากแบคทีเรียไม่ละลายในสารละลายด่างและกรดที่อุณหภูมิห้อง แต่ละลายในสารละลายกรดที่มีความเข้มข้นสูงที่อุณหภูมิ 120 - 130 องศาเซลเซียส เส้นใยเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรีย มีโครงสร้างและคุณสมบัติเฉพาะที่แตกต่างจากเส้นใยเซลลูโลสจากพืช เชื้อ *Acetobacter* sp. สามารถผลิตเส้นใยเซลลูโลส โดยเส้นใยเหล่านี้จะเจริญอยู่บริเวณผิวหน้าของอาหารเหลว (liquid culture) ถ้าเปรียบเทียบโครงสร้างและวิถีของการสังเคราะห์พบว่า เส้นใยจากแบคทีเรียจะประกอบด้วยเส้นใยเล็ก ๆ มากมายเชื่อมกันเป็นร่างแห ซึ่งต่างจากเส้นใยจากพืช แสดงดังรูปที่ 2.2 (พิมพ์เพ็ญ และคณะ, 2554)



รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส

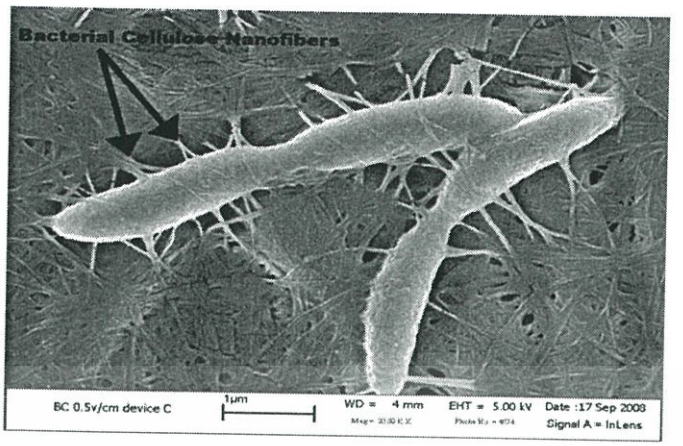
ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0612/cellulose (8 กันยายน 2557)

2.2.1.1 ลักษณะของเชื้อ *Acetobacter*

เชื้อ *Acetobacter* ลักษณะทั่วไปคือ มีรูปร่างตั้งแต่รูปไข่จนกระทั่งรูปร่างแท่งตรงหรือโค้งงอเล็กน้อย ติดสีแกรมลบ เซลล์มีขนาดกว้าง x ยาว ประมาณ 0.6 - 0.8 x 1.0 - 1.4 ไมโครเมตร มักอยู่แบบเดี่ยว เป็นคู่หรือเป็นสายโซ่ เซลล์มีทั้งเคลื่อนที่ได้และไม่ได้ ไม่พบการสร้างเอนโดสปอร์ เป็นแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ แสดงดังรูป 2.2 เมตาบอลิซึมเป็นแบบใช้ออกซิเจน โคโลนีมีสีขาวหรือมีสีชมพูจากสาร Porphyrins ที่สร้างขึ้น ไม่สามารถย่อยเจลาตินและไม่สร้างไฮโดรเจนซัลไฟต์ สามารถออกซิไดซ์เอทานอลให้กลายเป็นกรดอะซิติกได้ ซึ่งกรดอะซิติกจะถูกออกซิไดซ์ต่อให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ สามารถใช้เอทานอล กลูโคสและกลีเซอรอลเป็นแหล่งของคาร์บอนเพื่อการเจริญได้

แบคทีเรียอยู่ในกลุ่มของ Chemoorganotroph สามารถเจริญได้ดีในอุณหภูมิระหว่าง 25 - 30 องศาเซลเซียส และพีเอชที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 5.4 - 6.3 แบคทีเรียในจีนัส Acetobacter แยกได้จากน้ำส้มสายชู เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น เบียร์ ไวน์ ไซเดอร์และเตกิลลา นอกจากนี้ยังสามารถแยกได้จากผลไม้ เช่น องุ่น ฝรั่ง ซาโปดิลลา มะเฟือง มังคุด มะม่วง กล้วย มะละกอ ดอกไม้ และจากอื่นๆ เช่น น้ำมะพร้าว เมล็ดปาล์มและเต้าหู้ (Kerster และคณะ, 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะของเชื้อ *Acetobacter* และลักษณะเส้นใย
ที่มา : http://www.vtnews.vt.edu/articles/2008/11/images/M_08680gatenholm-.jpg (8กันยายน 2557)

2.2.2 ยีสต์ (yeast)

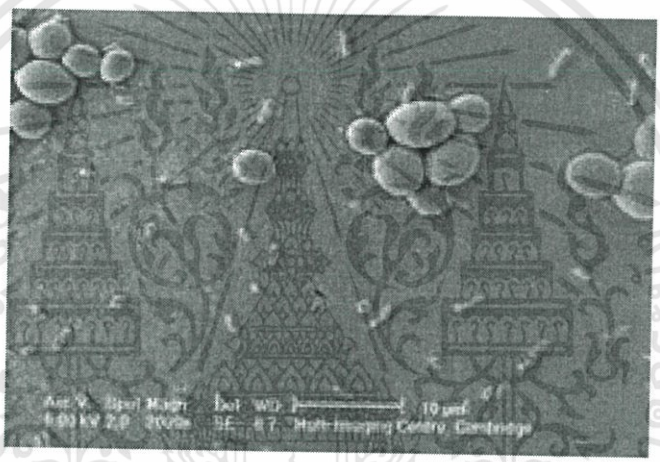
ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตในอาณาจักรเห็ดรา (Kingdom Fungi) เช่นเดียวกับเชื้อรา แต่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว (Unicellular) มีขนาด 5 - 10 ไมครอน เมื่อแตกหน่อและเซลล์ต่อกันเป็นสาย เรียกว่า ซูโดไมซิเลียม (psudomycelium) บางชนิดสร้างเส้นใยที่แท้จริง (true mycelium) เช่นเดียวกับเชื้อรา ยีสต์มีรูปร่างหลายแบบ ทั้งแบบกลม รูปไข่ รูปไข่ปลายแหลม รูปคนโท สามเหลี่ยม ทรงกระบอก และรูปเลมอน ส่วนใหญ่จะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหน่อ (budding) สามารถพบยีสต์ได้ทั่วไปในธรรมชาติทั้งในดิน ในน้ำ หรือในส่วนต่างๆ ของพืช ยีสต์บางชนิดอาจพบอยู่กับแมลง หรือแม้แต่ในกระเพาะของสัตว์บางชนิด แต่แหล่งที่พบยีสต์ได้บ่อย คือ แหล่งที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูง เช่น น้ำผลไม้ที่มีรสหวาน สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของยีสต์แต่ละชนิด เช่น ยีสต์พวก *Saccharomyces* เจริญได้ดีในที่ที่มีน้ำตาลเช่น น้ำหวานของดอกไม้ ตามผิวของผลไม้ที่สุกงอมหรือมีตำหนิ ในน้ำผลไม้ที่เกิดการหมัก เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถพบยีสต์ได้ในผักดอง ผลไม้ดอง และอาหารหมักในบางระยะ

2.2.2.1 ลักษณะของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae เซลล์รูปกลม รูปรี ทรงกระบอกหรือยาว สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหน่อรอบเซลล์ อาจสร้างซูโดไมซิเลียม แต่ไม่พบไมซิเลียมที่แท้จริง สร้างแอสโคสปอร์ รูปกลมหรือรูปไข่ ผนังเรียบ มีบางชนิดที่ผนังสปอร์อาจมีปุ่ม โดยปกติมีจำนวน 1-4 สปอร์ต่อแอสคัส สปอร์หลุดออกจากแอสคัสได้ยาก ทุกชนิดหมักได้รวดเร็ว ยีสต์พวกนี้จะรวมตัวกันอย่างหลวมๆ ลอยอยู่กับฟองก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ผิวหน้าของการหมัก *S. cerevisiae* สามารถหมักน้ำตาลได้เกือบทุกชนิดโดยเฉพาะ กาแล็กโทส กลูโคส ฟรักโทส และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แมนโนส ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและเป็นแหล่งพลังงาน *S. cerevisiae* ไม่สามารถเจริญเติบโตในซูโครสในสภาพไม่มีออกซิเจนได้ สามารถใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ ต้องการฟอสฟอรัสสำหรับการเจริญและการหมัก และสามารถใช้โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสเฟตได้ดีกว่า ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ส่วนแหล่งของซัลเฟอร์มักใช้ในรูปซัลเฟต วิตามินเป็นสารช่วยส่งเสริมในการเจริญของ *S. cerevisiae* ต้องการไบโอตินในการเจริญ ซึ่งไบโอตินมีส่วนร่วมในการสร้างสารต่างๆหลายชนิด เช่น การสังเคราะห์ไพริดิน นิวคลีโอไทด์ เป็นต้น การขาดไบโอตินมีผลทำให้พลาสมาเมมเบรนจะได้รับความเสียหาย อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 28 - 32 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุด ในการเจริญเติบโต คือ 0 – 5 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดในการเจริญเติบโต คือ 40 - 42 องศาเซลเซียส ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต พีเอชในการเจริญเติบโตสูงสุด คือ 9.1 - 9.2 พีเอชต่ำสุด คือ 2.4 - 2.6



รูปที่ 2.3 เซลล์ของ *Saccharomyces cerevisiae*

ที่มา : http://pvtridvs.net/pool/users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/Y/Yeast.html (30 สิงหาคม 2557)

2.3 ปฏิกิริยาการเกิดชาหมักคอมบูชา

ปฏิกิริยาจะเกิดจากแบคทีเรียและยีสต์ทั้งสองชนิดจะเป็นแบบพึ่งพาอาศัยกันในลักษณะเอื้อประโยชน์ต่อกันหรือเรียกว่า stable symbiosis โดยเกิดขึ้นภายใต้บริเวณโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นร่างแหเซลลูโลส กิจกรรมการหมักในระยะแรกยีสต์จะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลซูโครสให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ กลูโคส และฟรุกโตส จากนั้นก็จะเปลี่ยนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวให้เป็นแอลกอฮอล์ ทำให้สภาวะดังกล่าวมีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกลุ่มแบคทีเรีย *Acetobacter* ที่สามารถเจริญได้ดีพร้อมทั้งผลิตกรดอะซิติก โดยเฉพาะการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* ที่สามารถให้ทั้งผลผลิตของกรดอะซิติก กรดกลูโคนิกและเซลลูโลส ทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชาหมักที่ได้มีคุณภาพดี ปริมาณกรดอะซิติกที่เพิ่มขึ้น และแปรผกผันกับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายที่ลดลง ขณะเดียวกันก็จะส่งผลต่อการเร่งการเจริญเติบโตของยีสต์และทำให้ยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์ได้มากขึ้น ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นยังสามารถช่วยกระตุ้นให้ *Acetobacter* เจริญและผลิตกรดอะซิติกได้ดีขึ้นเช่นกัน การที่แบคทีเรีย *Acetobacter* สามารถออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ไปเป็น acetaldehyde และสารให้กลิ่นรสอื่นๆ เป็นผลให้ชาหมักมีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่สูงมากนักเมื่อเทียบกับเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ทั่วไป ปกติเครื่องดื่มชาหมักมีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่เกิน 10 กรัมต่อลิตร ส่วนปริมาณกรดทั้งหมดมีค่าน้อยกว่า 30 กรัมต่อลิตรหรือประมาณร้อยละ 3 กรดที่พบในชาหมัก ได้แก่ อะซิติก แลคติก และกลูโคนิก ผลดีของกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในชาหมักคือ มีคุณสมบัติช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Battikh และคณะ, 2011) เช่น *Salmonella typhi Shigella sonnei Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus*

กระบวนการหมักเพื่อให้ได้กรดอะซิติก เป็นปฏิกิริยา 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยยีสต์ที่ใช้เป็นหัวเชื้อ ในระยะแรกจะเป็นการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์เขียนเป็นสมการได้ (ดุษณี, 2555) ดังนี้

$$\underset{\text{น้ำตาล}}{C_6H_{12}O_6} \longrightarrow \underset{\text{ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์}}{2CO_2} + \underset{\text{เอทิลแอลกอฮอล์}}{2C_2H_5OH} + \text{พลังงาน}$$

ระยะที่สองเป็นปฏิกิริยาออกซิไดส์เอทิลแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติกโดยเชื้อแบคทีเรียภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน โดยสามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

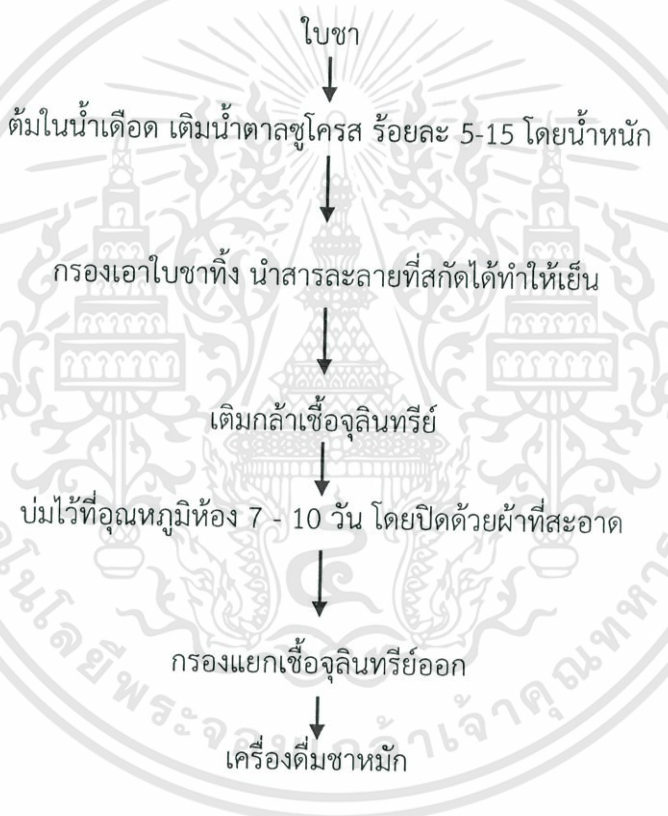
$$\underset{\text{เอทิลแอลกอฮอล์}}{C_2H_5OH} + \underset{\text{ออกซิเจน}}{O_2} \longrightarrow \underset{\text{กรดอะซิติก}}{CH_3COOH} + \underset{\text{น้ำ}}{H_2O}$$

2.4 กระบวนการผลิตชาหมักคอมบูชา (Stag and Millin, 1975)

การผลิตเครื่องดื่มชาหมักทำได้โดยการนำใบชาดำมาต้มในน้ำเดือด เพื่อสกัดสารอาหาร และแร่ธาตุต่างๆออกจากใบชา เติมน้ำตาลซูโครสในปริมาณที่พอเหมาะเพื่อใช้เป็นแหล่งสารอาหารในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ แล้วจึงเติมกล้าเชื้อจุลินทรีย์และบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 - 10 วัน เพื่อให้จุลินทรีย์ดำเนินกิจกรรมการหมัก ขั้นตอนสำคัญของการผลิตชาหมัก คือ การควบคุมกิจกรรมการหมัก ซึ่งมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายปัจจัย ได้แก่ ชนิดและปริมาณรวมทั้งสัดส่วนของกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก คุณภาพของใบชาที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบ เนื่องจากชนิดของใบชาจะมีผลต่อความแตกต่างขององค์ประกอบสำคัญทางเคมีของปริมาณของแข็งที่สกัดได้ เช่น ปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

caffeine theophylline theobromine และ polyphenol โดยเฉพาะสารสำคัญในกลุ่ม polyphenol คือ catechins ซึ่งมีสมบัติเป็น bacteriostatic สามารถช่วยยับยั้งการเจริญของ *Streptococcus mutans* และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคอื่นๆ ในชาเขียวพบว่ามีปริมาณ catechins มากถึงร้อยละ 34 แต่ในชาดำมีเพียงร้อยละ 4.2 ส่วนองค์ประกอบอื่นๆ ไม่มีความแตกต่างกันมากนัก ยกเว้น thearubingens ที่มีในชาดำมากถึงร้อยละ 17 แต่ไม่พบในชาเขียว (Stag and Millin, 1975) ทำให้คุณภาพชาหมักที่ได้มีคุณภาพแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามในการผลิตชาหมักส่วนใหญ่จะใช้ใบชาดำมากกว่าชาชนิดอื่น เนื่องจากคุณภาพชาหมักที่ได้จะมีสี กลิ่น รสชาติที่เฉพาะและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค แม้ว่าจะมีเครื่องดื่มชาหมักที่ผลิตขึ้นจากชาเขียว แต่ก็ได้รับการยอมรับน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่ผลิตได้จากใบชาดำ กระบวนการผลิตชาหมักแสดงดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 กระบวนการผลิตเครื่องดื่มชาหมัก
ที่มา http://yaamata.blogspot.com/2011/10/kombucha.html
(1 มกราคม พ.ศ. 2559)

การผลิตชาหมักจะใช้วิธีการเรียนรู้แบบถ่ายทอดกันมาหรือเรียกว่า ภูมิปัญญาชาวบ้าน ดังนั้นการผลิตชาหมักจึงไม่มีมาตรฐานการผลิตที่ชัดเจน รวมทั้งยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดถึงชนิดและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ดำเนินกิจกรรมระหว่างการหมัก ซึ่งในทางปฏิบัติจะนำเชื้อจุลินทรีย์จากการหมักครั้งก่อนมาเป็นกล้าเชื้อเพื่อใช้ในกระบวนการหมักครั้งต่อไป แม้ว่าการผลิตชาหมักส่วนมากจะผลิตในระดับครัวเรือน แต่ผลการสำรวจความปลอดภัยของเครื่องดื่มชาหมักพบว่า ชาหมักมีอัตรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นพิษและก่อให้เกิดอันตรายในอัตราที่ต่ำมาก อาจเป็นไปได้ว่าโดยธรรมชาติของชาหมักซึ่งมีค่าความเป็นกรด - ด่างต่ำประมาณ 2.5 ทำให้เป็นข้อจำกัดการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคส่งผลให้ชาหมักมีความปลอดภัยต่อการบริโภค

อย่างไรก็ตามก็มีการวิจัยอยู่บ้างที่ศึกษาถึงกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่ดำเนินกิจกรรมในการหมัก (Greenwalt *et al.*, 2000 : Liu *et al.*, 1996) ซึ่งพบว่าคือ กลุ่มแบคทีเรียและยีสต์ โดยกลุ่มแบคทีเรียที่พบจะเป็นชนิดต้องการอากาศในการเจริญเติบโต และสามารถสร้างเซลลูโลสที่มีลักษณะคล้าย surface mold หรือ mushroom ส่วนกลุ่มยีสต์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมัก คือ กลุ่มยีสต์ที่สามารถผลิตสารแอลกอฮอล์ และยังมีงานวิจัยที่ได้ทำการศึกษาการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตชาหมักจากแหล่งผลิตในประเทศไต้หวัน 3 แหล่ง (Liu *et al.*, 1996) ได้แก่ Taipei Hsinchu และ Chiayi พบว่ามีกลุ่มแบคทีเรีย Acetobacter และยีสต์ เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มที่ได้มาจำแนกโดยอาศัยความแตกต่างของคุณสมบัติทางกายภาพและทางชีวเคมี พบว่า เป็นแบคทีเรียกลุ่ม *Acetobacter aceti subsp. Acetobacter xylinum* และ *Acetobacter pasteurianus* ซึ่งมีคุณสมบัติเฉพาะคือสามารถผลิตเซลลูโลสได้ ส่วนยีสต์ที่จำแนกได้ คือ *Saccharomyces cerevisiae Brettanomyces bruxellensis* และ *Zygosaccharomyces balilii* ยีสต์กลุ่มนี้ล้วนแต่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และอาหารหมัก สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเป็นกรดสูงและมีน้ำตาลสูง นอกจากนี้ยังอาจพบยีสต์ชนิดอื่นบ้างแต่ไม่ค่อยมีความสำคัญกับกระบวนการหมัก ได้แก่ *Candida tropicalis Debaryomyces hansenii Torulopsis famata* และ *Pichia membranefacience* เป็นต้น

2.5 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของแบคทีเรียเซลลูโลส (เอกรัฐ และคณะ, 2550)

2.5.1 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์

การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อศึกษาลักษณะหรือการเจริญของจุลินทรีย์ แบ่งตามลักษณะของอาหารเลี้ยงเชื้อทางกายภาพ ได้แก่ การเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง (agar) ใช้วุ้นเป็นส่วนผสมหลัก ใช้สำหรับเพาะแยกจุลินทรีย์ให้บริสุทธิ์ หรือใช้ดูลักษณะของโคโลนี หรือใช้เก็บจุลินทรีย์ไว้ศึกษาการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว (broth) ใช้ดูการเจริญของจุลินทรีย์ หรือทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของจุลินทรีย์ และอาหารกึ่งแข็ง ใช้ในการศึกษาการเคลื่อนไหวของจุลินทรีย์ ใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนน้อย

2.5.2 ความเป็นกรดด่าง

มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ จุลินทรีย์ส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่พีเอช 6.58 - 7.5 จุลินทรีย์ก่อโรคเจริญได้ดีที่พีเอช 7.0 - 7.4 ความเข้มข้นของสารละลายมีผลต่อ Osmotic pressure

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งมีผลต่อการคงสภาพของเซลล์ จุลินทรีย์บางชนิดเจริญได้ในสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้นสูง เรียกว่า Halophile

2.5.3 วัตถุดิบในการผลิตคอมบูชา

ควรเป็นชาที่ไม่มีการปนเปื้อนเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้ออื่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ และควรเป็นชาที่ใหม่ผ่านการต้มที่ระยะเวลาไม่นาน หากเวลานานอาจมีผลต่อจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ได้รับสารอาหารได้ไม่เต็มที่ เนื่องจากชาเป็นองค์ประกอบสำคัญในการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

2.5.4 ออกซิเจน

เชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเซลลูโลสเป็นเชื้อที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญและสร้างแผ่นเซลลูโลส โดยใช้ผ้าขาวบางปิดบริเวณปากขวดโหลเพื่อให้ออกซิเจนสามารถถ่ายเทได้ และเมื่อเชื้อมีความหนาแน่นในระดับหนึ่งจะเริ่มสร้างเป็นแผ่นเซลลูโลส แผ่นเซลลูโลสที่ได้จึงอยู่บริเวณด้านบนของขวดโหล เนื่องจากเป็นบริเวณที่มีออกซิเจนมากที่สุด Kouda และคณะ (1997) ศึกษาผลกระทบของออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ในการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* พบว่า อัตราการผลิตเซลลูโลสขึ้นอยู่กับอัตราการถ่ายเทออกซิเจน เมื่อเพิ่มความดันออกซิเจนจะไม่ส่งผลกระทบต่อการผลิตเซลลูโลส แต่เมื่อความดันคาร์บอนไดออกไซด์สูงทำให้อัตราการผลิตเซลลูโลสลดลง สามารถแก้ไขได้โดยการเพิ่มอัตราการไหลของอากาศ

2.5.5 สารอาหาร

มีผลต่อการสร้างเซลลูโลส เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ผลิตนั้นใช้สารอาหารหลัก คือ น้ำตาลซูโครสเพื่อให้เกิดการสร้างเซลลูโลสที่เหมาะสมและสามารถเจริญได้ในน้ำหมักคอมบูชา

2.5.6 อุณหภูมิ

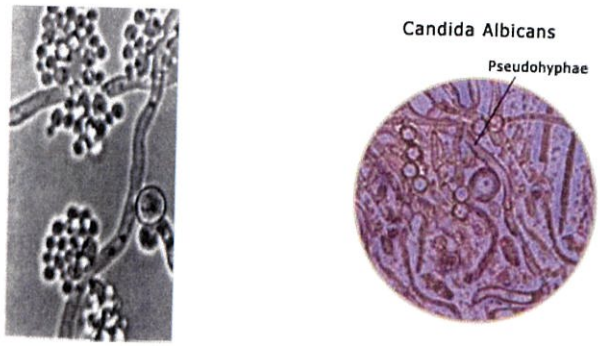
ส่วนใหญ่สามารถเจริญและสร้างเซลลูโลสได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 25 - 30 องศาเซลเซียส และผลิตเซลลูโลสได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 10 - 40 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิต่ำหรือสูงกว่านี้มากเชื้อไม่สามารถเจริญได้ (Kouda และคณะ, 1997)

2.6 เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของคอมบูชา

2.6.1 *Candida albican*

เชื้อใน genus *Candida* จัดเป็น Yeast-like fungi คือ ตัวเชื้อเป็นยีสต์เซลล์ มีรูปกลมหรือรี สืบพันธุ์โดยการแตกหน่อ (budding) ได้เป็น blastoconidia และสร้างได้ทั้ง true hyphae และ pseudohyphea มีรูปร่างทั้งในแบบ yeast form และ mycelial form แสดงดังรูป ที่ 2.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



A B

รูปที่ 2.5 แสดงลักษณะของเชื้อ *Candida albican* ส่องภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ (A,B)
ที่มา: http://microbio.md.kku.ac.th//mykku_microbio/3/Lecture/ CandidiasisThai.pdf.

แล้วแต่ระยะเวลาของการเจริญเติบโต อาหารและสภาวะแวดล้อม เมื่อเจริญเติบโตบน Sabouraud's agar ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในเวลา 3 วัน รูปร่างเซลล์ของยีสต์ จะมีลักษณะกลมหรือรูปไข่ ขนาด 5 - 7 ไมโครเมตร เพิ่มจำนวนด้วยการสร้าง blastoconidia ถ้าเลี้ยงบน Cornmeal agar ที่อุณหภูมิห้อง และเวลาเดียวกันมีรูปร่างเป็น mycelium และ pseudomycelium ตรงส่วนปลายมักสร้าง chlamydoconidia รูปร่างกลมผนังหนา ขนาด 8-12 ไมโครเมตร สร้าง blastoconidia จาก hyphae หรือ pseudohyphae ตรงบริเวณที่มีผนังกั้นเซลล์ และถ้าอยู่ในสภาวะที่มีอากาศน้อยภายใต้แผ่น cover slip จะสามารถสร้าง mycelia และ chlamycocanidia ได้เร็วขึ้น ถ้าเติมเชื้อลงไปใน serum หรือไข่ขาวเก็บไว้ในอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เซลล์ของยีสต์จะเริ่มงอก hypha เป็นหลอดสั้นๆที่เรียกว่า germ tube

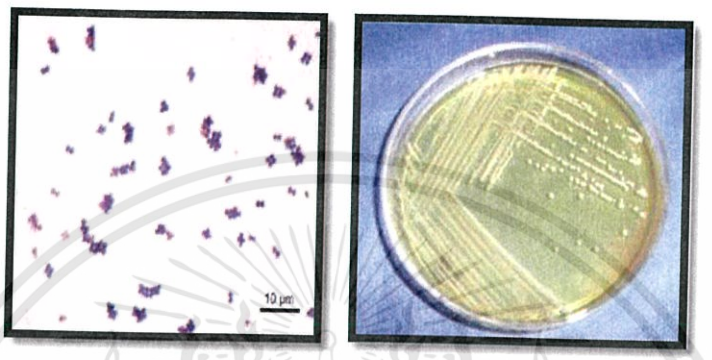
Candida albican เป็น saprophytic fungus อาศัยอยู่เป็นประจำในระบบทางเดินอาหาร และตามเยื่อบุต่างๆของคนเรา เช่น ในปาก และช่องคลอด ในจำนวนที่สมดุลกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น และระบบความต้านทานของร่างกายจึงไม่ก่อโรคขึ้น นอกจากนี้ยังพบอยู่ในลำไส้ของสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนม และนก *Candida albican* ไม่อาจเจริญเติบโตอยู่ในธรรมชาติได้ ถ้าพบว่าอยู่ในที่ใดหรือของสิ่งใด แสดงว่าสิ่งนั้นถูกปนเปื้อนด้วยอุจจาระของคนหรือสัตว์ และจำนวนเชื้อที่อยู่ในปากจะมากขึ้น ถ้าคนๆนั้นไม่รักษาความสะอาดในปาก เชื้อในลำไส้ขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่คอยแย่งอาหารหรือปล่อยสารต่อต้านต่างๆ เช่น lactic acid ทำให้ *Candida albican* ไม่อาจจะเพิ่มจำนวนได้มากขึ้น

การติดเชื้อส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อจากคนมากกว่าจะติดจากสิ่งแวดล้อม พบว่าการติดเชื้อในช่องคลอดจาก *Candida* sp. เกิดได้บ่อยกว่าการติดเชื้อโรคอื่น ซึ่งทำให้เกิดการอักเสบในช่องคลอด เกิดจาก *Candida albican* ร้อยละ 93 - 98 ที่เหลือเกิดจากตัวอื่น *เช่น*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Torulopsis glabata แต่ลักษณะทางคลินิกเหมือนกันไม่ว่าเกิดจากเชื้อตัวใด การติดเชื้อในท่อปัสสาวะพบได้ร้อยละ 0.5 และเป็นสาเหตุของหนองในเทียมร้อยละ 1 ผู้ที่เป็นโรคมักมีสุขภาพเสื่อมโทรมด้วยโรคอื่นอยู่ก่อน หรือมีสาเหตุต่างๆ ที่ส่งเสริมที่ทำให้เกิดโรคนี้ได้ง่ายขึ้น

2.6.2 *Staphylococcus aureus*



A B

รูปที่ 2.6 แสดงลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (A) และโคโลนีของเชื้อ *Staphylococcus aureus* (B)

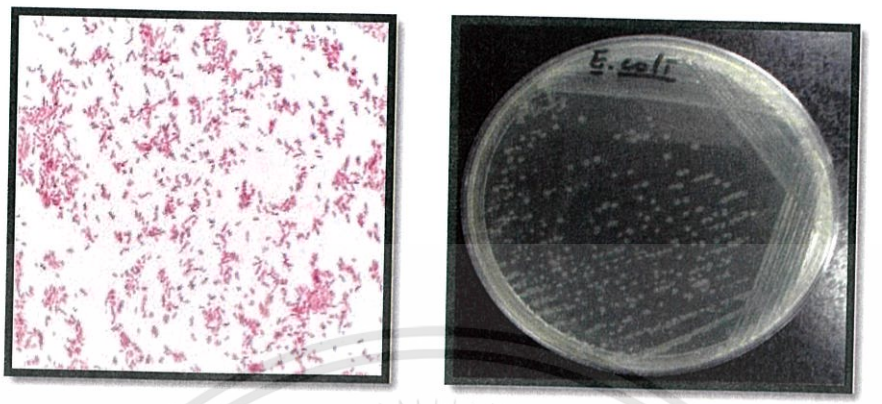
ที่มา : http://www.gbif.org/species/322765412

Staphyloccus aureus เป็นแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) ที่สำคัญในอาหาร แบคทีเรียชนิดนี้ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) มีรูปร่างเป็นทรงกลม (coccus) อยู่รวมกันเป็นพวงคล้ายพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming bacteria) ไม่เคลื่อนไหว ส่วนใหญ่ไม่มีแคปซูล ให้ผลบวกในการทดสอบ catalase และในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะสลายน้ำตาลกลูโคสให้กรดอินทรีย์ จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe คือ เจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แต่เจริญได้ดีกว่าในสภาวะที่มีอากาศ *Staphylococcus aureus* สร้างสารพิษ (toxin) ชนิดเอนทีโรทอกซิน (enterotoxin) สารพิษที่สร้างมีสมบัติพิเศษ คือ ทนความร้อน

Staphylococcus aureus ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ชนิด intoxication ซึ่งเกิดจากบริโภคอาหารที่มีสารพิษ enterotoxin ที่เชื้อสร้างขึ้น ปนเปื้อนในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม จะสามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและอ่อนเพลีย ผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการปวดศีรษะ เป็นตะคริวที่กล้ามเนื้อ และมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะๆ รวมทั้งอาจมีการเต้นของชีพจรผิดปกติ ซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2 - 3 วัน ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานสารพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารและปริมาณสารพิษที่สร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.1.3 *Escherichia coli*



A B

รูปที่ 2.7 แสดงลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (A) และโคโลนีของเชื้อ *Escherichia coli* (B)
ที่มา : http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=133

เป็นแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์ม เป็นตัวชี้การปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำ มีอยู่ตามธรรมชาติในลำไส้ใหญ่ของสัตว์และมนุษย์ แบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอาการท้องเสียบ่อยที่สุด ทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ ทำให้ถ่ายอุจจาระเหลว หรือเป็นน้ำ แต่อาการมักไม่รุนแรง เพราะทั้งเด็กและผู้ใหญ่มักมีภูมิต้านทานอยู่บ้างแล้ว เนื่องจากได้รับเชื้อนี้เข้าไปทีละน้อยอยู่เรื่อยๆ เชื้อนี้มักปนเปื้อนมากับอาหาร น้ำ หรือ มือของผู้ประกอบอาหาร ปกติเชื้อเหล่านี้อาจพบในอุจจาระได้อยู่แล้วแม้จะไม่มีอาการอะไร มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น พม่า ไทย ลาว กัมพูชา อินโดนีเซีย เป็นต้น

6.1.4 Pseudomonas aeruginosa

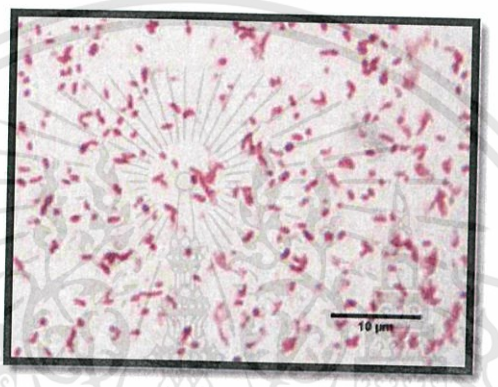
รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
ที่มา: http://medinfo.psu.ac.th/pr/MedBoard/readboard.php?id=113

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pseudomonas aeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแท่ง แสดงดังรูปที่ 2.9 aerobic เป็นแบคทีเรียในวงศ์ *Pseudomonadaceae* สามารถเคลื่อนที่ได้โดย flagellum 1 เส้นที่ติดอยู่ตรงหัว ปกติจะพบกระจายในดิน น้ำ ขยะ หรือในพืช และเป็น normal flora ในลำไส้คน *Pseudomonas aeruginosa* สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ รวมทั้งสัตว์ แมลงและต้นไม้ได้บ้าง

Pseudomonas aeruginosa เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสจะมีการติดเชื้อกับผู้ที่ภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วยมากๆ หรือผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล

6.1.5 Vibrio parahaemolyticus (ศรีวรรณา, 2558)



รูปที่ 2.9 แสดงลักษณะของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
ที่มา: http://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/xvp/xvp01.html

เชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง แสดงดังรูปที่ 2.10 มีแหล่งธรรมชาติในน้ำทะเลและน้ำกร่อย แยกได้จากน้ำทะเลทั่วโลก พบได้ในกุ้ง หอย ปลา และปูหลายชนิด ก่อโรคอาหารเป็นพิษหรือทางเดินอาหารอักเสบ ส่วนใหญ่สายพันธุ์ที่แยกได้จากผู้ป่วยจะสามารถผลิตสารพิษชนิดทนความร้อนเรียกว่า Thermostable direct hemolysin ซึ่งพบการระบาดครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่น (ค.ศ. 1950 หรือ พ.ศ. 2493) Fujino และคณะ แยกเชื้อได้จากอุจจาระผู้ป่วยที่เมืองโอซากา ประเทศญี่ปุ่น สาเหตุอาหารเป็นพิษจากการรับประทาน "ชิราสุ shirasu" เป็นเพราะคนญี่ปุ่นชอบรับประทานปลาดิบ รายงานจากประเทศญี่ปุ่น จีน ไต้หวัน อินเดีย และหลายๆ ประเทศทางเอเชียรวมทั้งอเมริกาพบว่า มากกว่าร้อยละ 50 ของโรคอาหารเป็นพิษมีสาเหตุจาก เชื้อ *V. parahaemolyticus* นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเชื้อนี้เป็นสาเหตุของการติดเชื้อทางบาดแผลร้อยละ 34 และการติดเชื้อในกระแสโลหิตร้อยละ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทำให้เกิดโรค

เกิดจากการกินอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปโดยเฉพาะอาหารทะเลพวก กุ้ง ปู ปลา หอย จำนวนเชื้อต้องมีมากตั้งแต่ 10^6 - 10^9 ตัวต่อกรัม จึงสามารถทำให้เกิดอาหารเป็นพิษได้ อาการมักปรากฏหลังจากกินเชื้อเข้าไป 10 ถึง 12 ชั่วโมง บางรายแสดงอาการภายใน 4 ถึง 96 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับความเป็นกรดหรือด่าง ภายในระบบทางเดิน ทำให้มีอาการท้องร่วงรุนแรง มีอุจจาระเหลวเป็นน้ำ มีกลิ่นเหม็นเหมือนกุ้งเน่า มักมีอาการปวดเกร็งที่ท้อง ครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยมีอาการอาเจียนร่วม แต่ส่วนใหญ่จะทุเลาลงภายใน 3 วัน โดยไม่ต้องรักษา

ความทนทานของเชื้อ

1. ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในเวลา 15 นาที
2. ถูกทำลายโดยกรด มีผู้ศึกษาพบว่าเชื้อนี้ถูกทำลายด้วยกรดมะนาว (กรดซิตริก) พีเอช 4.4 ในเวลาเพียง 30 นาที
3. ในฤดูหนาวเชื้อสามารถอาศัยในตะกอนใต้พื้นน้ำ
4. สามารถมีชีวิตอยู่ในอาหาร หรือน้ำที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ตั้งแต่ร้อยละ 1 - 8 ถ้ามากกว่าร้อยละ 10 เชื้อจะตาย สามารถอยู่ได้ที่อุณหภูมิต่ำเช่นในเนื้อปู (1 - 15 องศาเซลเซียส) นาน 30 วัน กุ้งปอกเปลือก (3 - 18 องศาเซลเซียส) นาน 6 วัน หอยนางรมแช่แข็งนาน 40 - 130 วัน

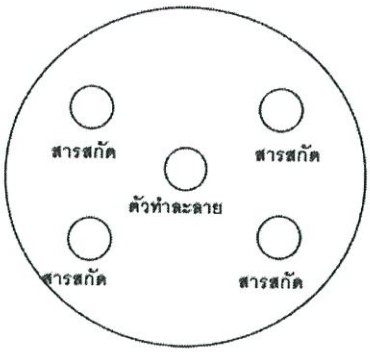
2.7 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Agar well diffusion

วิธีการทำ Agar well diffusion ขั้นแรกการเตรียมเชื้อเพื่อใช้ในการทดสอบโดยเพิ่มจำนวนเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว วัดความขุ่นของเชื้อเพื่อให้ได้จำนวนเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับการทดสอบแล้ว spread เชื้อบน Mueller-Hinton agar ให้ทั่ว จุ่มกระดาษกรองปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร และวางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ควรทำกลุ่มควบคุม คือ กระดาษกรองปลอดเชื้อที่จุ่มในตัวทำละลายสมุนไพรด้วย หรืออาจใช้วิธีการเจาะหลุม (hole-plate diffusion) (เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) แล้วหยดสารละลายลงไปประมาณ 40 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มเพาะเชื้อนาน 24 ชั่วโมง แล้ววัดเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมบวกที่ใช้ disc ยาปฏิชีวนะที่ทราบปริมาณยาที่แน่นอน

การแปรผลของวิธีนี้จะสามารถบอกได้เพียงว่าชาชนิดต่างๆนั้น สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้มากหรือน้อยตามขนาดของบริเวณใสเท่านั้น และอาจใช้การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเจริญของเชื้อที่เกิดจากยาปฏิชีวนะมาตรฐานก็ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



รูปที่ 2.10 แสดงตำแหน่งที่จะวางแผ่นกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร
ที่มา : https://research.dusit.ac.th/menu/abstra/abstract/full/sci/Amonrat_nontabury/ch3

2.8 ประโยชน์ของคอมบูชา

ชาหมักหรือคอมบูชาเป็นเครื่องดื่มที่มีปลอดภัยที่ชาวจีนนิยมดื่มมานานกว่า 2000 ปี จนถึงทุกวันนี้ ในกระบวนการหมักจะไม่เกิดสารพิษใดๆ อีกทั้งจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมักเป็นกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหารทั้งสิ้นและเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มากมายหลายชนิด (ฉัตรชัย, 2552) นอกจากความปลอดภัยแล้วชาหมักยังมีกรดอินทรีย์หลายชนิด เช่น กรดอะซิติก (Acetic Acid) ช่วยในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคหลายชนิดและถนอมอาหาร กรดมาลิก (Malic Acid) ช่วยในกระบวนการล้างพิษ กรดกลูโคนิก (Gluconic Acid) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ กรดนิวคลีอิก (Nucleic Acid) ซ่อมแซมฟื้นฟูเซลล์ กรดโฟลิก (Folic Acid) สร้างเม็ดเลือดแดง และควบคุมการทำงานของสมอง กรดแลคติก (Lactic Acid) ช่วยในการย่อยอาหารและถนอมอาหาร กรดออกซาลิก (Oxalic Acid) ส่งเสริมการผลิตพลังงานของเซลล์ และถนอมอาหาร กรดบิวทิริก (Butyric Acid) ลดอาการอักเสบ และกรดอะมิโน (Amino Acids) ซ่อมแซมเนื้อเยื่อ และเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน

ปัจจุบันมีงานวิจัยและข้อมูลทางวิทยาศาสตร์มากมายที่บ่งชี้คุณประโยชน์ของคอมบูชาต่อสุขภาพ ซึ่งสอดคล้องกับคำบอกเล่าของผู้ดื่มชาหมักนี้เป็นประจำ เช่น ช่วยระบบขับถ่าย บรรเทาอาการอ่อนเพลีย ช่วยในการนอนหลับ ลดคอเลสเตอรอล ความดันโลหิต การอักเสบ ไมเกรน ช่วยการทำงานของตับและขับสารพิษ เป็นต้น (Hemila และ Herman, 1995)

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Battikh และคณะ (2012) ได้ศึกษาและเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ชาคอมบูชากับการหมักชาดำกับพืชประจำถิ่นของตูนิเซียทั้ง 5 ชนิด ซึ่งในสมัยก่อนจะใช้เป็นยารักษาโรค ได้แก่ *Thymus vulgaris L.* (ไทม์) *Lippia citriodora* (เลม่อนเบอบีน่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

149056

Rosmarinus officinalis (โรสแมรี่) *Foeniculum vulgare* (ผักชีล้อม หรือ fennel) และ *Mentha piperita* (เปเปอมิ้นต์) พืชพวกนี้มีผลในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและยีสต์ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อเป็นผื่นที่เยื่อบุต่างๆ กรณีศึกษานี้เป็นการทดสอบครั้งแรกสำหรับการพิสูจน์ผลกระทบต่อปัจจัยต่างๆ โดยเฉพาะฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หลากหลายสายพันธุ์ พบว่า มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการยับยั้งเชื้อยีสต์ *Candida* โดยข้อมูลที่ได้รับ ซึ่งยอมรับว่าไทม์คอมบูชาสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้งหมดที่นำมาทำการทดสอบ และเครื่องดื่ม Kombucha analogue แบบใหม่นี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งน้อยสุด 11 มิลลิเมตร และมากที่สุดเป็น 28.5 มิลลิเมตร จากการสังเกตครั้งนี้พิสูจน์ให้เห็นว่าฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เป็นผลจากกระบวนการหมักและองค์ประกอบพื้นฐานที่มีสารละลายที่แตกต่างกัน การสังเกตฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในสารละลายคอมบูชานี้ไม่ได้ให้ความสำคัญในแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบที่เป็นแบคทีเรียก่อโรคเพียงอย่างเดียวเท่านั้น แต่ยังทดสอบการต่อต้านเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Candida* ด้วย พบว่าฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของเครื่องดื่ม Kombucha analogue ไม่ได้มาจากการเพิ่มสารสกัดหรือเนื่องจากกรดอินทรีย์ในการหมักเครื่องดื่มเพียงอย่างเดียว ซึ่งจะยืนยันการเปลี่ยนแปลงสารเคมีที่ประกอบขึ้นภายใต้ความร้อน สามารถอธิบายได้จากกระบวนการ epimerization คาเทชินในชา นี่เป็นข้อเท็จจริงที่สามารถยืนยันได้โดยการศึกษา (Kim และคณะ, 2007)

Greenwalt (1998) ได้ศึกษาการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยคอมบูชา พบว่า คอมบูชาแบบดั้งเดิม มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจากส่วนประกอบชาหมักมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ การศึกษาครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อตรวจสอบกิจกรรมที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยใช้วิธี disc-diffusion พบว่าในกลุ่มตัวอย่างชาหมักที่มีกรดทั้งหมด 33 กรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (*Agrobacterium tumefaciens Bacillus cereus Salmonella cholerasuis Typhimurium serotype Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* แต่พบว่าเชื้อ *Candida albicans* ไม่ได้ถูกยับยั้งโดยชาหมักคอมบูชา

Chen และ Liu (2000) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบหลักของชาเห็ดระหว่างการหมักเป็นเวลานานพบว่า การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบที่สำคัญและจุลินทรีย์ในน้ำชาเห็ด (หรือเรียกว่า คอมบูชา) ซึ่งเตรียมจากชา 9 ชนิดที่แตกต่างกัน ในระหว่างการหมักเป็นเวลานาน 60 วัน นำมาตรวจสอบปริมาณของเซลล์ยีสต์และแบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติกในน้ำชาหมักพบว่ามีสูงกว่าที่อยู่ในแผ่นเซลลูโลส ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสจะลดลงแปรผันตรงกับเวลา การเผาผลาญกลูโคสและฟรุกโตสที่ได้มาจากการย่อยสลายของน้ำตาลซูโครส กลูโคสไม่ได้มีปริมาณเท่ากับฟรุกโตส (0.085 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร) แต่ถูกผลิตที่อัตราเริ่มต้นที่ต่ำกว่า (0.041 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร) ทั้งนี้ปริมาณกรดกลูโคนิกจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นสำหรับกรดอะซิติกจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆมีค่าสูงสุด 1.1 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร หลังจากหมักเป็นเวลา 30 วัน หลังจากนั้นก็

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะค่อยๆ ลดลง ดังนั้นคุณภาพและองค์ประกอบของคอมบูชาสามารถควบคุมได้โดยทำการหมักในระยะเวลาที่เหมาะสม

Chan และคณะ (2011) ศึกษาคุณสมบัติในการต้านการออกซิเดชันและต้านแบคทีเรียของชาเขียว ชาดำ และชาสมุนไพร (*Camellia sinensis*) พบว่า ชาเขียวมีฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าชาดำ และชาสมุนไพร ชาหมักจากชาหกชนิดไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ ชาเขียวสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกโดยเฉพาะ *S. aureus* ชาดำและชาสมุนไพรสามารถยับยั้งการเจริญของ *M. luteus* และ *B.cereus* แต่ไม่ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*

Sreeramulu (2000) ได้ศึกษาการหมักคอมบูชาและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยพบว่า คอมบูชาถูกเตรียมในน้ำชาความเข้มข้นร้อยละ 0.5 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่มีส่วนผสมของน้ำตาลซูโครสร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตร โดยใช้หัวเชื้อคอมบูชาที่ได้ พบว่า ค่าพีเอชลดลงจาก 5 จนถึง 2.5 ในระหว่างการหมัก และมีน้ำหนักเซลล์ (tea fungus) และค่า OD ของน้ำชาหมักเพิ่มขึ้นตลอด 4 วันของระยะเวลาการหมัก หลังจากนั้นจึงค่อยๆคงที่ ปริมาณของกรดอะซิติกที่แบคทีเรียและยีสต์สร้างขึ้นเพิ่มขึ้นจนถึงระยะเวลาวันที่ 4 ของการหมักและลดลงหลังจากนั้น การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์พบว่า ชาคอมบูชาสามารถต้านเชื้อก่อโรคต่างๆ เช่น *Staphylococcus aureus Shigella sonnei Escherichia coli Aeromonas hydrophila Yersinia enterolitica Pseudomonas aeruginosa Enterobacter cloacae Staphylococcus epidermis Campylobacter jejuni Salmonella enteritidis Salmonella typhimurium Bacillus cereus Helicobacter pylori* และ *Listeria monocytogenes* ซึ่งพบว่าเชื้อเหล่านี้มีความไวต่อชาคอมบูชา จากการศึกษาคอมบูชา พบว่าปริมาณกรดอะซิติกมีผลต่อการยับยั้งการเจริญด้วย จากการทดลองได้พิสูจน์ว่า คอมบูชาสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. Coli Sh. Sonnei Sal. Typhimurium Sal. enteritidis* และ *Cm. jejuni* ได้ในสภาวะที่มีค่าพีเอชเป็นกลางและที่อุณหภูมิปกติ การวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า ยังมีสารต้านจุลชีพอื่นๆอีกนอกเหนือจากกรดอะซิติกและโปรตีนขนาดใหญ่ในคอมบูชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1.1 เชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922

3.1.1.2 เชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* TISTR 25923

3.1.1.3 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

3.1.1.4 เชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 25923

3.1.1.5 เชื้อ *Candida albican* ATCC 90028

เชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.1.2 วัตถุดิบ

3.1.2.1 ชาดำ (ตราสามม้า)

3.1.2.2 ชาเขียว (ตราหลงจิ่ง)

3.1.2.3 น้ำตาลซูโครส (น้ำตาลทรายแดง ตราวังขนาย)

3.1.2.4 ขิงแก่

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

3.1.3.1 อาหารสูตร Mueller Hinton Broth (MHB)

3.1.3.2 อาหารสูตร Mueller Hinton Agar (MHA)

3.1.3.3 อาหารสูตร Sabouraud's Dextrose Broth (SDB)

3.1.3.4 อาหารสูตร Sabouraud's Dextrose Agar (SDA)

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.4.1 ซูโครสมาตรฐาน

3.1.4.2 ไฮโดรคลอริก

3.1.4.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์

3.1.4.4 ฟีนอล์ฟทาลีน

3.1.4.5 น้ำกลั่น

3.1.4.6 3,5 ไดไนโตรซาลิไซลิก

3.1.4.7 โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4.8 เอทานอลร้อยละ 90

3.1.4.9 โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.5.1 โหลแก้วขนาด 1,000 มิลลิลิตร

3.1.5.2 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.1.5.3 จานเพาะเชื้อ

3.1.5.4 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.5.5 Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

3.1.5.6 ลวดเขี่ยเชื้อ

3.1.5.7 บีกเกอร์

3.1.5.8 หลอดทดลอง

3.1.5.9 คิวเวต

3.1.5.10 จุกยาง

3.1.5.11 แท่งแก้วคนสาร

3.1.5.12 ปิเปต

3.1.5.13 บิวเรตต์

3.1.5.14 หลอดเซนติฟิวส์

3.1.5.15 เครื่องชั่งน้ำหนักสี่ตำแหน่งยี่ห้อ Sartorius รุ่น TE214S

3.1.5.16 เครื่องมือวัดขนาด (Vernier calipers) ยี่ห้อ Mitutoyo รุ่น Absolute Digital Caliper

3.1.5.17 ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar air flow) ยี่ห้อ Telstar รุ่น Bio two advance

3.1.5.18 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ยี่ห้อ Contherm รุ่น Polar 1000 Incubator

3.1.5.19 ตู้อบแห้ง (Hot air oven) ยี่ห้อ Memmert รุ่น INB500

3.1.5.20 เครื่อง Vortex ยี่ห้อ SI รุ่น Genie 2

3.1.5.21 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ Hermle รุ่น Z 383 K

3.1.5.22 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) ยี่ห้อ Clean รุ่น PH200 & PH500

3.1.5.23 หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave) ยี่ห้อ Tomy รุ่น High-Pressure Stream Sterilizer ES-315

3.1.5.24 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV-1601

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

การดำเนินงานแบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้

3.2.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักคอมบูชา โดยศึกษาชนิดของชา

3.2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อ

นำน้ำสะอาดปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด จากนั้นนำชาดำและชาเขียวที่ห่อด้วยผ้าขาวบางอย่างละ 40 กรัม นำชาดำใส่ลงในน้ำที่ต้มจนเดือดเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำชาออกจากน้ำชา และเติมน้ำตาลซูโครส 150 กรัม (ร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร) คนให้น้ำตาลซูโครสละลาย ทิ้งไว้ให้เย็น เทน้ำหมักใส่ในขวดโหลที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยเติมน้ำชาปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นเติมแผ่นเซลลูโลสเก่าลงในน้ำชาร้อยละ 3 น้ำหนักต่อปริมาตร (30 กรัม) และเติมส่วนที่เป็นน้ำหมักเดิมร้อยละ 10 ปริมาตรต่อปริมาตร (100 มิลลิลิตร) ปิดปากโหลด้วยผ้าขาวบาง รัดให้แน่น บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน สำหรับชาเขียวมีวิธีการเตรียมหัวเชื้อเช่นเดียวกันกับชาดำ

3.2.1.2 ศึกษาชนิดของชาในการหมักคอมบูชา

หมักชา 3 ชนิด คือ ชาดำ ชาเขียว และชาขิง โดยนำน้ำสะอาด 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด นำชาแต่ละชนิดห่อด้วยผ้าขาวบางร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตร (40 กรัม) ใส่ลงในน้ำเดือด 5 นาที จากนั้นนำชาออก เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร (150 กรัม) ละลายให้เข้ากัน ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง สำหรับชาขิง ใช้ขิงแก่ 40 กรัม ปอกเปลือกใส่ลงหม้อชา นำน้ำชาใส่ขวดโหลที่มีความจุ 1,500 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โหลละ 1,000 มิลลิลิตร เติมแผ่นเซลลูโลสเก่าลงในน้ำชาร้อยละ 3 น้ำหนักโดยปริมาตร (30 กรัม) และน้ำหมักเดิมร้อยละ 10 ปริมาตรต่อปริมาตร (100 มิลลิลิตร) หมักที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 20 วัน เก็บตัวอย่างในวันที่ 0 5 10 15 และ 20 นำน้ำหมักที่ได้ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้วิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้ ค่าพีเอชของน้ำหมัก ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติก ปริมาณน้ำตาลซูโครสและน้ำหนักเซลล์แห้งรวมทั้งทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Agar well diffusion

3.2.1.3 การวิเคราะห์

นำน้ำหมักที่ได้มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสมาวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้

1. พีเอช(pH)

วิเคราะห์โดยเครื่อง pH meter

2. ปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก) โดยนำน้ำหมักที่ได้ 10 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางกับน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาตร 90 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอฟทาลีน 2 - 3 หยด นำมาไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ทำให้สารละลายตัวอย่างเปลี่ยนเป็นสีชมพู (จุดสมดุล) ตามสูตรดังนี้

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติก (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาตรของสารละลาย NaOH (ml)} \times \text{ความเข้มข้นของสารละลาย NaOH} \times \text{Mw (acetic acid = 60)} \times 100}{1{,}000 \times \text{ปริมาตรของสารตัวอย่าง}}$$

3. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลซูโครสโดยดัดแปลงจากวิธีดีเอนเอส (DNS method)

นำน้ำหมักที่ได้ใส่ลงในหลอดทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร หยดสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 หยด นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาหยดสารละลายเบสโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 3 หยด และเติมดีเอนเอสปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ทำให้เย็นทันที จากนั้นเติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ควรมีค่าอยู่ในช่วง 0.2 - 0.8 หากเกินจากนี้ควรทำการเจือจางน้ำหมักที่ได้ การคำนวณปริมาณน้ำตาลซูโครส หน่วยเป็นกรัมต่อลิตร

4. การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง

นำน้ำหมักปริมาตร 50 มิลลิลิตร มาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 8,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทส่วนใสออก และนำหลอดเซนติฟิวไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 24 - 48 ชั่วโมง จนมีน้ำหนักคงที่ นำมาวางในเดซิเคเตอร์นาน 2 - 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก

5. การวิเคราะห์ผลผลิตเซลลูโลส (yield of cellulose)

นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในวันที่ 20 ล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำไปอบที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน นำมาวางในเดซิกเคเตอร์ นาน 2 - 3 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักแห้งของเซลลูโลสที่ได้ คำนวณตามสูตรได้ดังนี้

$$\text{ผลผลิตเซลลูโลส (กรัม/ลิตร)} = \frac{(\text{น้ำหนักเซลลูโลส} + \text{น้ำหนักกระดาษกรอง}) - \text{น้ำหนักกระดาษกรอง}}{\text{ปริมาตรน้ำหนัก (มิลลิลิตร)}} \times 1{,}000$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค

3.2.2.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

เตรียมหัวเชื้อโดยการถ่ายจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *V. parahaemolyticus* *E.coli* *P. Aeruginosa* *S. aureus* และ *C. albican* ลงในอาหาร Mueller Hinton Broth (MHB) สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และลงในอาหาร Sabouraud's Dextrose Broth (SDB) สำหรับเชื้อยีสต์ และบ่มที่อุณหภูมิ 37 และ 30 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในอาหาร MHB streak ลงบนอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 - 48 ชั่วโมง สำหรับเชื้อยีสต์ streak ลงบนอาหาร Sabouraud's Dextrose Agar (SDA) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ที่เจริญบนอาหาร MHA และ SDA ที่อยู่ในจานเพาะเชื้อ นำปลายลูปแตะเชื้อมาเพียงเล็กน้อยใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำมาปรับความขุ่นให้เท่ากับความขุ่นของ McFarland standard No. 0.5 ซึ่งจะได้เซลล์แขวนลอยที่มีความหนาแน่นประมาณ 1.5×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (จริยา และคณะ, 2536)

3.2.2.2 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำหมักคอมบูชาโดยวิธี Agar well diffusion

เตรียมอาหาร MHA และ SDA ในจานเพาะเชื้อ ใช้ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วชุบเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียและยีสต์ที่มีความหนาแน่นประมาณ $10^8 \times 1.5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ทา (Swab) ให้ทั่วอาหาร MHA และ SDA ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ จากนั้นทำการเจาะหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิลิตร บนอาหาร MHA และ SDA ด้วย cork borer ที่ผ่านการฆ่าเชื้อจำนวน 7 หลุม หยดตัวอย่างจำนวน 7 ตัวอย่าง คือ ยาปฏิชีวนะ vancomycin (0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ลงบนจานเพาะเชื้อของแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *S. aureus* ยาปฏิชีวนะ Gentamicin (0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ลงบนจานเพาะเชื้อของแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *V. parahaemolyticus* *E. coli* และ *P. aeruginosa* ยาปฏิชีวนะ Ketoconazole (0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ลงบนจานเพาะเชื้อของยีสต์ *C. albican* ชาและยาที่ใช้ทดสอบต้องนำไปกรองผ่านกระดาษกรองขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร คือ ชาเขียวที่ไม่ผ่านการหมัก ชาดำที่ไม่ผ่านการหมัก ชาขิงที่ไม่ผ่านการหมัก คอมบูชาจากชาเขียว ชาดำและชาขิง ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมที่เจาะไว้นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส สำหรับยีสต์และแบคทีเรีย ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลองเชื้อละ 5 ซ้ำ จากนั้นทำการตรวจผลโดยวัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เป็นวงใส (clear zone) โดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์ (Vernier Caliper) ในการวัดขนาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชา

การประเมินคุณภาพของน้ำหมักคอมบูชาจากชาหมักทั้ง 3 ชนิดนั้น จะทดสอบด้วยการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส โดยกำหนดวิธีการให้คะแนนความชอบตามสเกลฮีโดนิค (Hedonic scale) ตั้งแต่ค่า 1 - 9 คะแนน (1 - ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 - ชอบมากที่สุด) และใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 20 คน โดยมีลักษณะที่ใช้ทดสอบคือ ค่าสี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมเปรียบเทียบระยะเวลาในการหมัก 5 10 15 และ 20 วัน และชนิดของชา (ชาดำ ชาเขียว และชาขิง) จากนั้นนำข้อมูลทั้งหมดมาหาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะต่างๆ และทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในการทดลองวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, (CRD)) มีจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) และวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) โดย Duncan's new multiple range test (DMRT) ใช้โปรแกรมสถิติในการวิเคราะห์ข้อมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักคอมบูชา โดยศึกษาชนิดของชา จากการวิเคราะห์ของค่าต่างๆ ดังต่อไปนี้

4.1.1 ผลของค่าพีเอช (pH) วิเคราะห์โดยเครื่อง pH meter

จากการนำชา 3 ชนิด คือชาดำ ชาเขียว และชาขิงมาหมักกับหัวเชื้อคอมบูชาโดยใช้ความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตรและใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตรที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 20 วัน โดยเก็บตัวอย่างน้ำหมักทุก 5 วัน (0 5 10 15 และ 20 วัน) โดยนำมาวิเคราะห์ค่าพีเอช ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติก ปริมาณน้ำตาลซูโครส และผลผลิตเซลลูโลส โดยผลผลิตเซลลูโลสวิเคราะห์ในวันสุดท้ายของการหมัก จากการทดลองพบว่าค่าพีเอชของคอมบูชามีการลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก โดยพบว่าในช่วงระยะเวลา 0 - 10 พีเอชมีการลดลงอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นพีเอชลดลงอย่างช้าๆจนสิ้นสุดการหมักในวันสุดท้ายของการหมัก พบว่า ค่าพีเอชของชาดำมีค่า 1.72 ± 0.04 และชาเขียวมีค่า 2.09 ± 0.04 และชาขิงมีค่า 1.88 ± 0.20 แสดงดังตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1

Dufresne และ Farnworth (2000) กล่าวว่า ค่าพีเอชที่ลดลงเป็นผลเนื่องจากมีการสร้างกรดอะซิติกในระหว่างการหมัก Bergey และ Holt (1994) รายงานว่า ค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Acetobacter* spp. จะอยู่ในช่วงระหว่างพีเอช 5.4 ถึง 6.3 และอาจจะพบการเจริญได้ที่พีเอช 4.0 ถึง 4.5 นอกจากนี้ยังพบการเจริญของเชื้อ *Acetobacter* spp. ได้เพียงเล็กน้อยที่พีเอช 7.0 ถึง 8.0 แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้พบว่า *Acetobacter* spp. จะสามารถเจริญและสร้างผลิตภัณฑ์เซลลูโลสได้ที่พีเอชต่ำกว่า 3 ซึ่งมีผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Goh และคณะ (2012) โดยเขาได้หมักชาดำคอมบูชา และศึกษาความเข้มข้นของปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมกับระยะเวลาการสร้างผลิตภัณฑ์เซลลูโลส Chen และ Liu (2000) ได้กล่าวว่า ผลการทดลองที่แตกต่างกันอาจเกี่ยวเนื่องจากสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ท้องถิ่น (normal flora) ที่อยู่ในหัวเชื้อคอมบูชา (tea fungus)

4.1.2 ผลของค่าปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก)

จากการการหมักชาทั้งสามชนิดที่อุณหภูมิห้องที่มีความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตรและมีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตรเป็นระยะเวลา 20 วัน โดยจะเก็บตัวอย่างทุกๆ 5 วัน (0 5 10 15 และ 20 วัน) จะเห็นได้ว่า ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติกของการหมักชาดำ ชาเขียว และชาขิง มีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก วันสุดท้ายของการหมัก (20 วัน) มีปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติกสูงสุด โดยชาดำ ชาเขียว และชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขิง มีปริมาณร้อยละ 0.36 ± 0.00 0.11 ± 0.01 และ 0.29 ± 0.02 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Rodrigo และคณะ (1948) ซึ่งได้ศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยได้นำชาที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มาใช้ในการทดลองในสภาวะต่างๆ ที่แตกต่างกัน คือ พีเอช ปริมาณน้ำตาลซูโครส และ $MgSO_4$ โดยพบว่าทุกปัจจัยที่ศึกษา พีเอชจะแปรผกผันกับปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติก การลดลงของค่าพีเอชจะเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติก Beuchat และ Golden (1999) ได้กล่าวว่าที่ระดับพีเอชเดียวกัน ถ้ามีปริมาณของกรดอะซิติกมาก จะยิ่งสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีขึ้น กรดอะซิติกเป็นสารนอนไอออนิกที่สามารถทะลุผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียและไปรบกวนองค์ประกอบต่างๆภายในเซลล์และไปรบกวนการทำงานของ PH gradient ดังนั้น กรดอะซิติกจึงถูกนำมาใช้ในการถนอมอาหารให้เก็บรักษาได้นานขึ้น

4.1.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลซูโครส

ในการศึกษานี้ได้ใช้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนในการหมักคอมบูชา โดยพบว่าในระหว่างการหมักคอมบูชา ปริมาณน้ำตาลซูโครสมีปริมาณลดลงตามระยะเวลาการหมัก เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตคอมบูชา จะมีการผลิตแอลกอฮอล์รวมทั้งกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ เกิดขึ้น (Frank, 1995 ; Hobbs, 1995) ในวันสุดท้ายของการหมัก ชาดำมีปริมาณน้ำตาลซูโครสเหลือ 48.50 ± 1.51 กรัมต่อลิตร และชาเขียวมีปริมาณน้ำตาลซูโครสเหลือ 50.83 ± 0.83 กรัมต่อลิตร และชาขิงมีปริมาณน้ำตาลซูโครสเหลือ 52.42 ± 2.33 กรัมต่อลิตร แสดงดังตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3 จากการทดลอง พบว่าปริมาณน้ำตาลซูโครสในชาหมักทั้งสามชนิดลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 10 วันหลังการหมัก หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลซูโครสลดลงเล็กน้อยและพบว่ามีความสอดคล้องกับการทดลองของ Rodrigo และคณะ (1948) ซึ่งทดลองนำชาที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มวลต่อปริมาตร หมักคอมบูชา พบว่า ปริมาณน้ำตาลซูโครสมีการลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก

4.1.4 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง

จากการทดลองพบว่า น้ำหนักเซลล์แห้งของชาหมักมีการเพิ่มขึ้น โดยพบว่าชาดำและชาเขียวมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักเซลล์แห้งอย่างรวดเร็วในช่วง 10 - 15 วัน หลังจากนั้นน้ำหนักเซลล์แห้งจะลดลงเล็กน้อย ในวันสุดท้ายของการหมัก (20 วัน) จะพบว่าชาดำ ชาเขียว และชาขิง มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 4.86 ± 0.55 8.09 ± 2.05 และ 2.07 ± 1.88 กรัมต่อลิตร แสดงดังตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.4

4.1.5 ผลการวิเคราะห์ผลผลิตเซลลูโลส

หมักคอมบูชาจากชาดำ ชาเขียวและชาขิง เป็นเวลา 20 วัน และเก็บเซลลูโลสที่ได้จากการหมักมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลแห้ง คำนวณผลผลิตเซลลูโลส พบว่าชาเขียวมีน้ำหนักเซลลูโลสมากที่สุด โดยมีน้ำหนักเซลลูโลสเท่ากับ 29.95 ± 4.11 กรัมต่อลิตร รองลงมาเป็นชาดำ 16.02 ± 0.23 กรัมต่อลิตร และชาขิง 6.37 ± 0.94 กรัมต่อลิตร

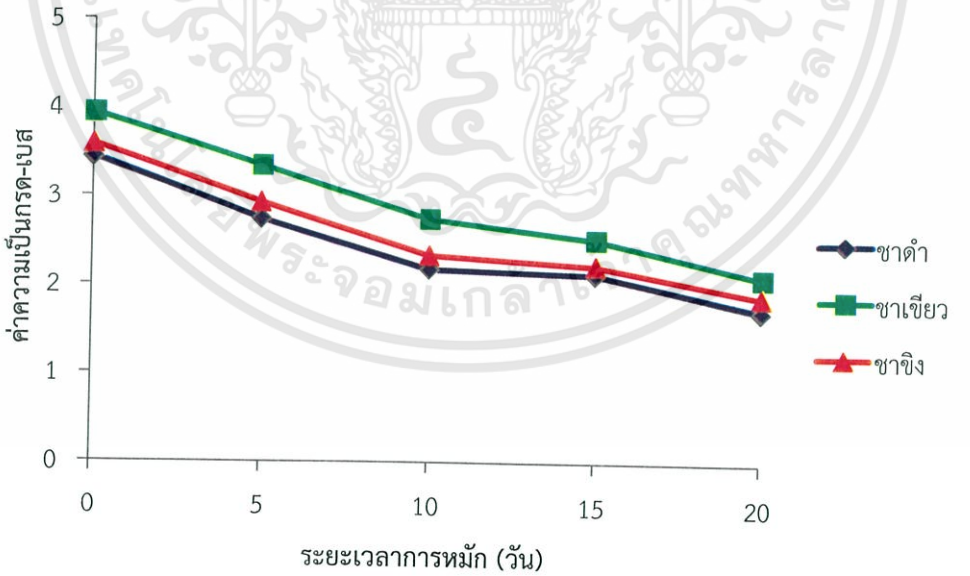
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ค่าพีเอชของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิง ที่มีความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตรความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ค่า pH		
	ชาดำ	ชาเขียว	ชาขิง
0	3.43^{a} ±0.08	3.92^{a} ±0.24	3.58^{a} ±0.29
5	2.74^{b} ±0.03	3.34^{b} ±0.03	2.93^{b} ±0.10
10	2.18^{c} ±0.01	2.75^{c} ±0.02	2.34^{c} ±0.03
15	2.12^{c} ±0.02	2.52^{d} ±0.09	2.23^{c} ±0.2
20	1.72^{d} ±0.04	2.09^{e} ±0.04	1.88^{d} ±0.2

หมายเหตุ

- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ



รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิงที่มีความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

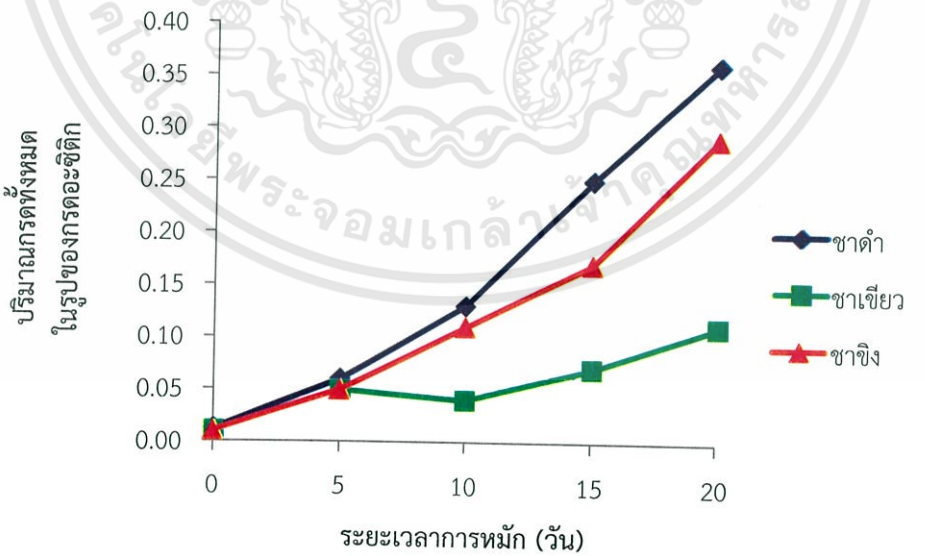
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก) ของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิง ที่ความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตรและความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร เป็นระยะเวลา 20 วัน

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติก (ร้อยละ)		
	ชาดำ	ชาเขียว	ชาขิง
0	$0.01^{e} \pm 0.00$	$0.01^{d} \pm 0.01$	$0.01^{e} \pm 0.00$
5	$0.06^{d} \pm 0.00$	$0.05^{c} \pm 0.00$	$0.05^{d} \pm 0.00$
10	$0.13^{c} \pm 0.01$	$0.04^{c} \pm 0.00$	$0.11^{c} \pm 0.00$
15	$0.25^{b} \pm 0.01$	$0.07^{b} \pm 0.01$	$0.17^{b} \pm 0.00$
20	$0.36^{a} \pm 0.01$	$0.11^{a} \pm 0.01$	$0.29^{a} \pm 0.02$

หมายเหตุ

- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ



รูปที่ 4.2 รูปแสดงปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก) ของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิงที่มีความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

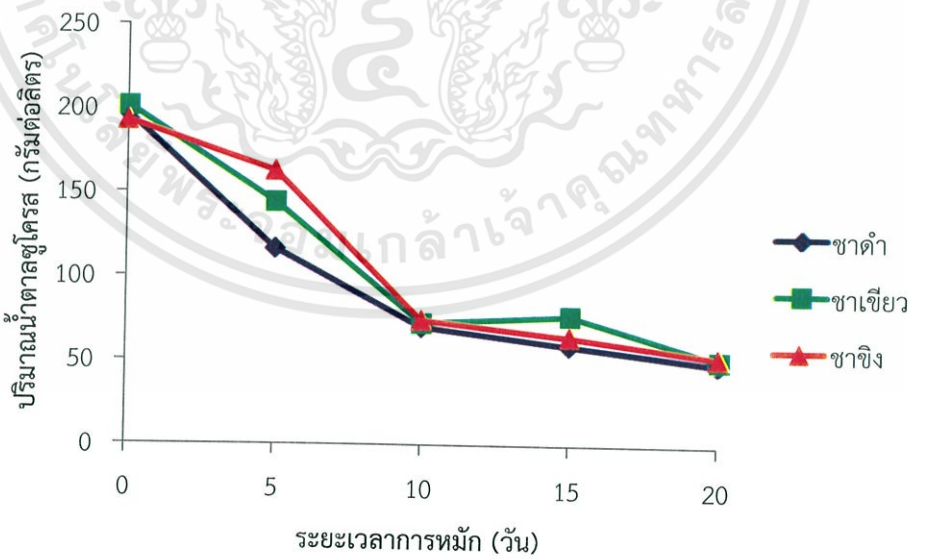
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 4.3 ปริมาณน้ำตาลซูโครสของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิง ที่ความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตรและความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 20 วัน

ระยะเวลาหมัก (วัน)	ปริมาณน้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)		
	ชาดำ	ชาเขียว	ชาขิง
0	$196.25^{a} \pm 11.46$	$201.09^{a} \pm 10.37$	$192.50^{a} \pm 5.73$
5	$116.50^{b} \pm 5.11$	$144.50^{b} \pm 7.92$	$163.13^{b} \pm 11.55$
10	$70.00^{c} \pm 14.95$	$72.50^{c} \pm 13.11$	$74.25^{c} \pm 30.00$
15	$59.25^{cd} \pm 1.09$	$77.00^{c} \pm 2.50$	$64.58^{c} \pm 8.26$
20	$48.50^{d} \pm 2.61$	$50.83^{d} \pm 1.44$	$52.42^{c} \pm 4.04$

หมายเหตุ

- ^{abc}ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ



รูปที่ 4.3 รูปแสดงปริมาณน้ำตาลซูโครสของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิงที่มีความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

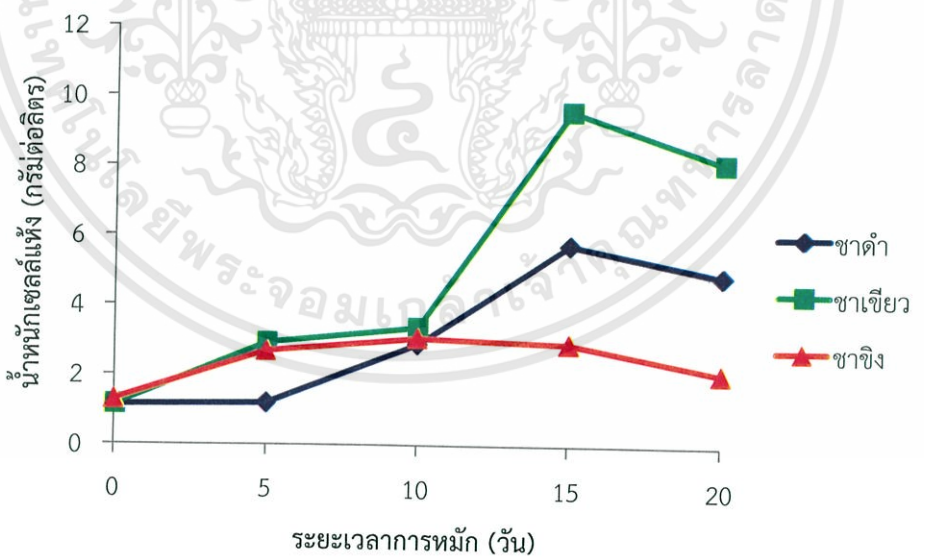
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 4.4 น้ำหนักเซลล์แห้งของคอมบูชาในการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิง ที่ความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตรและความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

ระยะเวลาหมัก (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม)		
	ชาดำ	ชาเขียว	ชาขิง
0	$1.14^{c} \pm 0.14$	$1.14^{b} \pm 0.50$	$1.28^{a} \pm 0.70$
5	$1.20^{bc} \pm 0.26$	$2.94^{b} \pm 0.81$	$2.70^{a} \pm 0.42$
10	$2.89^{b} \pm 0.66$	$3.37^{b} \pm 0.31$	$3.07^{a} \pm 0.28$
15	$5.74^{a} \pm 1.46$	$9.57^{a} \pm 3.78$	$2.92^{a} \pm 0.34$
20	$4.86^{a} \pm 0.55$	$8.09^{a} \pm 2.05$	$2.07^{a} \pm 1.88$

หมายเหตุ

- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ



รูปที่ 4.4 น้ำหนักเซลล์แห้งของคอมบูชาในการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิงที่มีความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตร และความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาชนิดของชาและระยะเวลาในการหมักคอมบูชาจากชาทั้งสามชนิด พบว่าชาดำ ชาเขียวและชาขิง หมักเป็นเวลา 10 - 15 วัน มีปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก) สูง ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณซูโครสที่ลดลงอย่างรวดเร็วในเวลาดังกล่าว

4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค

4.2.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของน้ำหมักคอมบูชาโดยวิธี Agar well diffusion

จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของคอมบูชา แสดงดังตารางที่ 4.5 พบว่า คอมบูชาจากการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิง มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาทำการทดสอบ ยกเว้น *C. albicans* คอมบูชาจากการหมักชาดำในวันที่ 0 - 5 ของการหมัก ยังไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ เริ่มมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ในวันที่ 10 โดยสามารถยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* และ *S. aureus* เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้น วันสุดท้ายของการหมัก (20 วัน) จะพบว่าคอมบูชาจากการหมักชาดำมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *V. parahaemolyticus* สูงที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส 23.47 ± 6.49 มิลลิเมตรและมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. Coli P. aeruginosa* และ *S. aureus* โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส 21.41 ± 3.66 22.54 ± 3.00 และ 15.52 ± 3.50 มิลลิเมตร ตามลำดับ

คอมบูชาจากการหมักชาเขียว ในวันที่ 0 - 5 ของการหมัก ยังไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบ เริ่มมีวงใสในการยับยั้งเชื้อในวันที่ 10 โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิดที่นำมาทดสอบยกเว้น *C. albicans* และบริเวณวงใสในการยับยั้งเชื้อ จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมักจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก (20 วัน) พบว่าคอมบูชาจากการหมักชาเขียว มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์สูงสุดโดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *V. paraheamolyticus* ได้สูงที่สุด โดยบริเวณวงใสมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 30.95 ± 5.71 มิลลิเมตร และมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli P. aeruginosa* และ *S. aureus* ได้ใกล้เคียงกัน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณวงใส 23.56 ± 1.90 26.33 ± 3.37 และ 23.66 ± 5.80 มิลลิเมตร ตามลำดับ

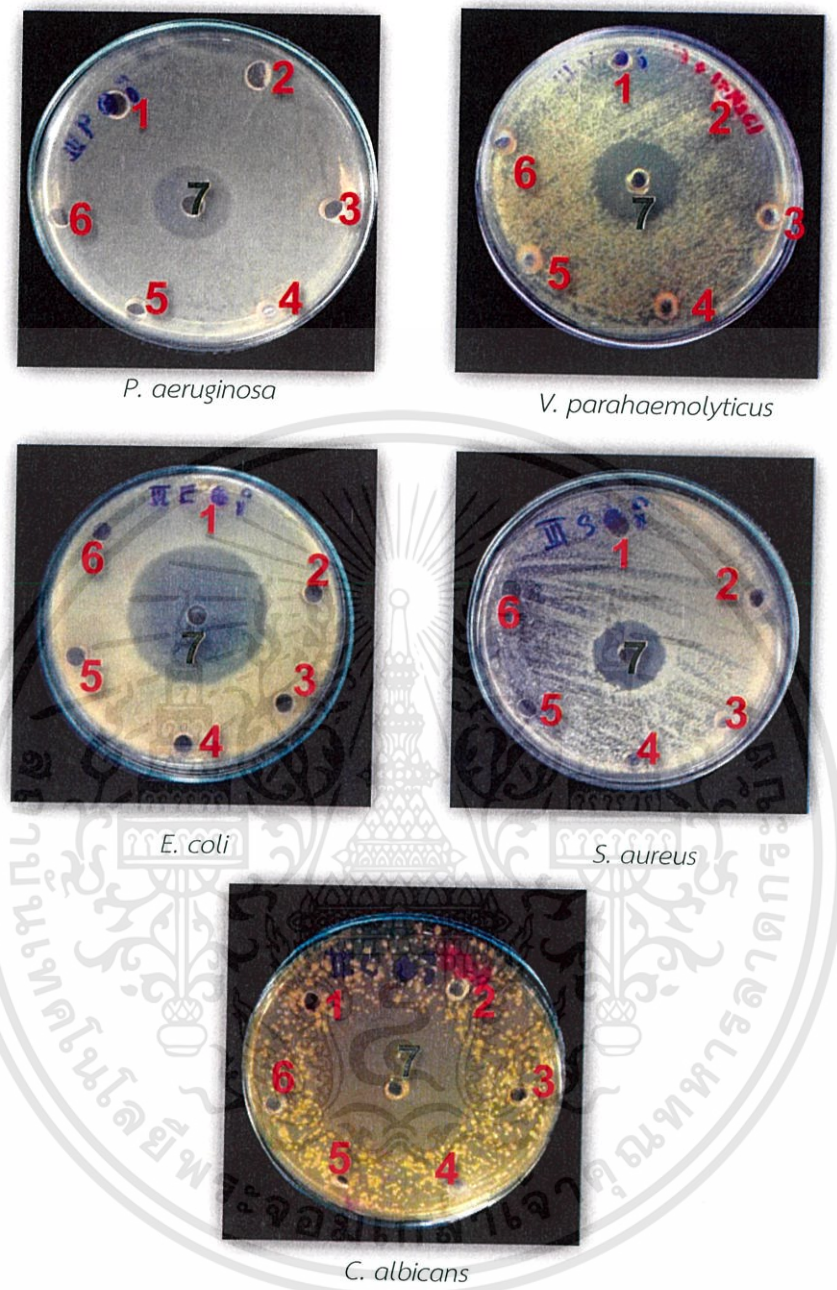
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คอมบูชาจากการหมักชาขิงในวันที่ 0 - 5 ของการหมัก ยังไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบเช่นเดียวกันกับคอมบูชาจากชาดำและชาเขียว เริ่มมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในวันที่ 10 เช่นเดียวกัน โดยสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ได้ เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้น วันสุดท้ายของการหมัก (20 วัน) จะพบว่าคอมบูชาจากการหมักชาขิงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *V. parahaemolyticus* ได้สูงสุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส 29.32 ± 9.95 มิลลิเมตร และมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. Coli* *P. aeruginosa* และ *S. aureus* ได้ใกล้เคียงกัน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณวงใส 19.42 ± 5.34 23.19 ± 10.04 และ 21.60 ± 6.62 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Talawat และคณะ (2006) โดยเขาได้เตรียมชาหมักคอมบูชาที่ใช้วัตถุดิบที่แตกต่างกัน เช่น ชามัลเบอร์รี่หมัก ชาเขียวญี่ปุ่นหมัก ชามะลิหมัก ชาอู่หลงหมักและ ชาดำหมัก มาใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในคนและกุ้ง พบว่า คอมบูชาสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ได้ดีที่สุด

เมื่อเปรียบเทียบชนิดของชาที่นำมาหมักคอมบูชาและทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่าคอมบูชาที่หมักจากชาเขียวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้สูงกว่าชาดำ และชาขิง เนื่องจากองค์ประกอบของชามีผลทำให้ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Chen และคณะ (2011) ซึ่งได้ศึกษาคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของชาเขียว ชาดำ และชาสมุนไพร พบว่าชาเขียวมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่าชาดำและชาสมุนไพร เนื่องจากชาเขียวมีสาร catechins ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์มากกว่าชาดำ และชาสมุนไพร นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักของคอมบูชามีผลทำให้องค์ประกอบของคอมบูชาที่ได้แตกต่างกันออกไป (Liu, 2000)

คอมบูชาที่ได้จากการหมักชาทั้งสามชนิด ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Greenwalt และคณะ (1998) ที่ศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในชาหมักคอมบูชา พบว่า ชาดำและชาเขียวที่ไม่ผ่านการหมัก ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ส่วนชาดำและชาเขียวที่ผ่านการหมัก ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมด 33 กรัมต่อลิตร มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* *Bacillus cereus* *Salmonella choleraesuis serotype Typhimurium* *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ยกเว้น *Candida albicans* และจากการทดลองของ Battikh และคณะ (2012) กล่าวว่า คอมบูชาที่เตรียมจากชาดำและชาเขียวสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในคนได้ ยกเว้น *Candida krusei* และนอกจากนี้ยังพบว่าชาเขียวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในคนสูงที่สุด

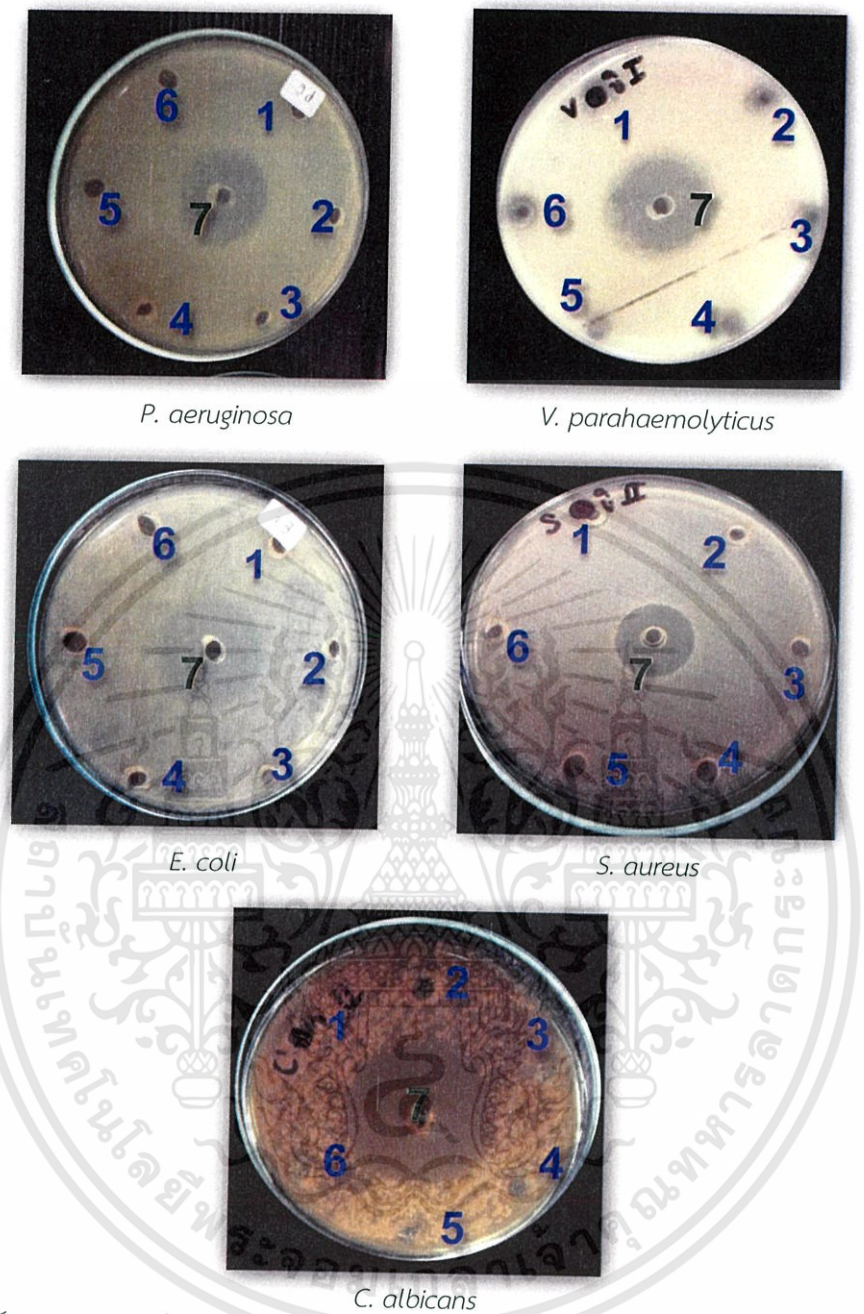
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 ฤทธิ์ของคอมบูชาที่ได้จากการหมักชาดำ ชาเขียว และชาขิงต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *P. aeruginosa* *V. parahaemolyticus* *E. coli* *S. aureus* และ *C. albicans* ตามลำดับ ในวันที่ 0

1. ชาขิง ไม่ผ่านการหมัก
2. ชาขิง ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 0 วัน
3. ชาเขียว ไม่ผ่านการหมัก
4. ชาเขียว ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 0 วัน
5. ชาดำ ไม่ผ่านการหมัก
6. ชาดำ ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 0 วัน
7. ยาปฏิชีวนะ Vancomycin สำหรับ *S. aureus* Gentamycin สำหรับ *V. parahaemolyticus* *E. coli* *P. aeruginosa* และ Ketoconazole สำหรับ *C. albicans*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ฤทธิ์ของคอมบูชาที่ได้จากการหมักชาดำ ชาเขียว และชาขิงต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *P. aeruginosa* *V. parahaemolyticus* *E. coli* *S. aureus* และ *C. albicans* ตามลำดับ ในวันที่ 5

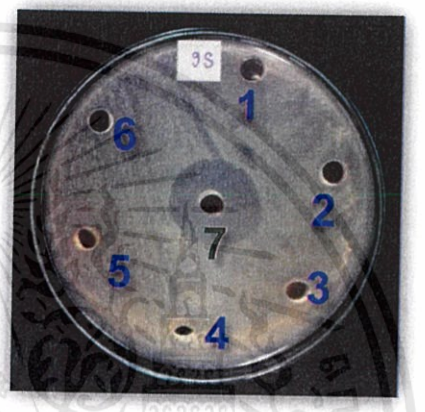
1. ชาขิง ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 5 วัน
2. ชาเขียว ไม่ผ่านการหมัก
3. ชาเขียว ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 5 วัน
4. ชาดำ ไม่ผ่านการหมัก
5. ชาดำ ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 5 วัน
6. ชาขิง ไม่ผ่านการหมัก
7. ยาปฏิชีวนะ Vancomycin สำหรับ *S. aureus* Gentamycin สำหรับ *V. parahaemolyticus* *E. coli* *P. aeruginosa* และ Ketoconazole สำหรับ *C. albicans*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

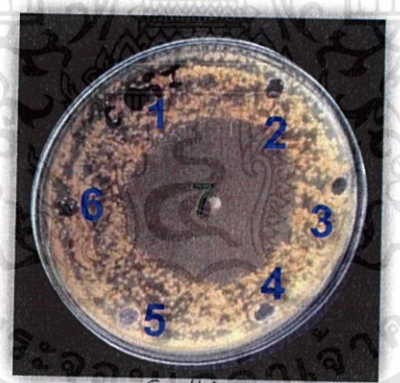
P. aeruginosa

V. parahaemolyticus

E. coli



S. aureus

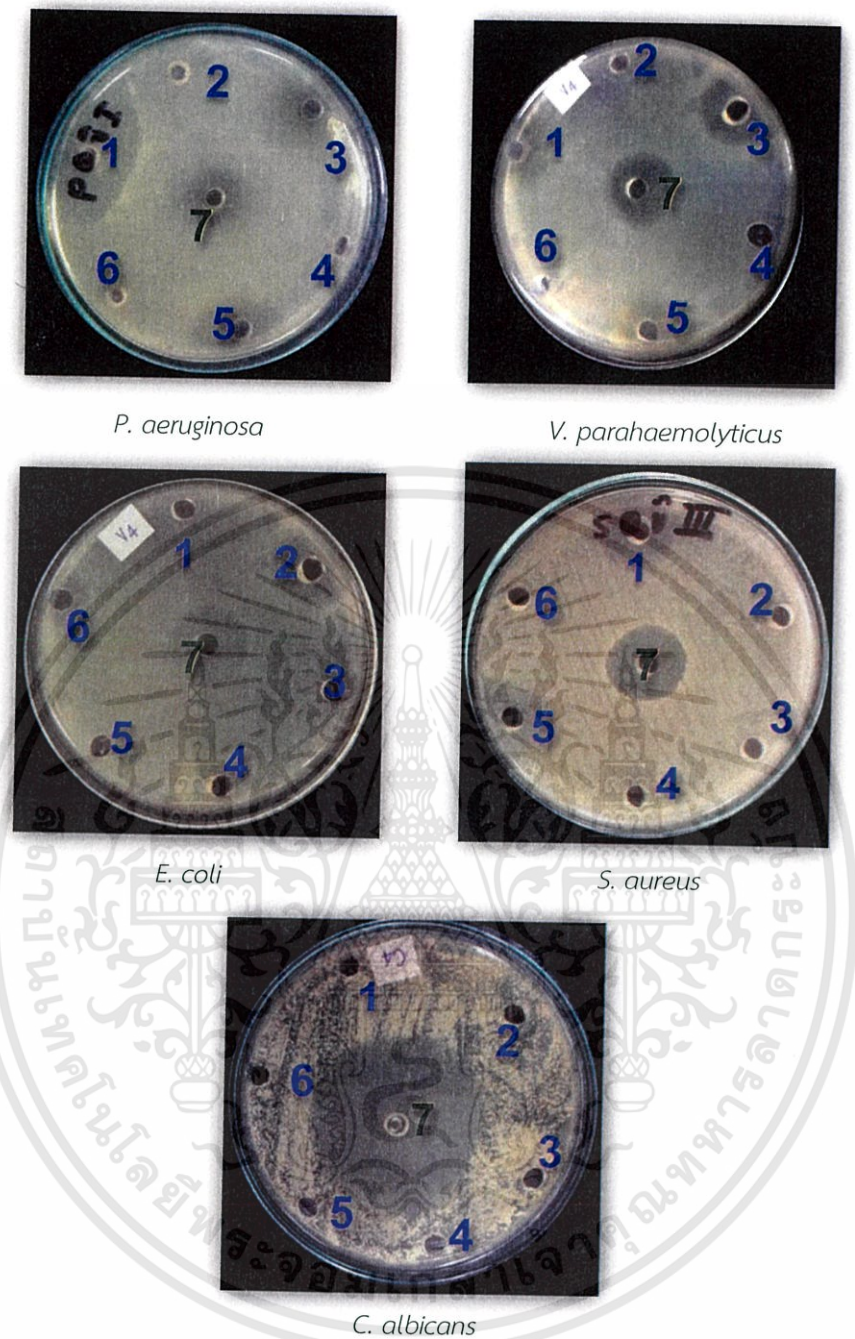


C. albicans

รูปที่ 4.7 ฤทธิ์ของคอมบูชาที่ได้จากการหมักชาดำ ชาเขียว และชาขิงต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *P. aeruginosa* *V. parahaemolyticus* *E. coli* *S. aureus* และ *C. albicans* ตามลำดับ ในวันที่ 10

1. ชาขิง ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 10 วัน
2. ชาเขียว ไม่ผ่านการหมัก
3. ชาเขียว ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 10 วัน
4. ชาดำ ไม่ผ่านการหมัก
5. ชาดำ ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 10 วัน
6. ชาขิง ไม่ผ่านการหมัก
7. ยาปฏิชีวนะ Vancomycin สำหรับ *S. aureus* Gentamycin สำหรับ *V. parahaemolyticus* *E. coli* *P. aeruginosa* และ Ketoconazole สำหรับ *C. albicans*

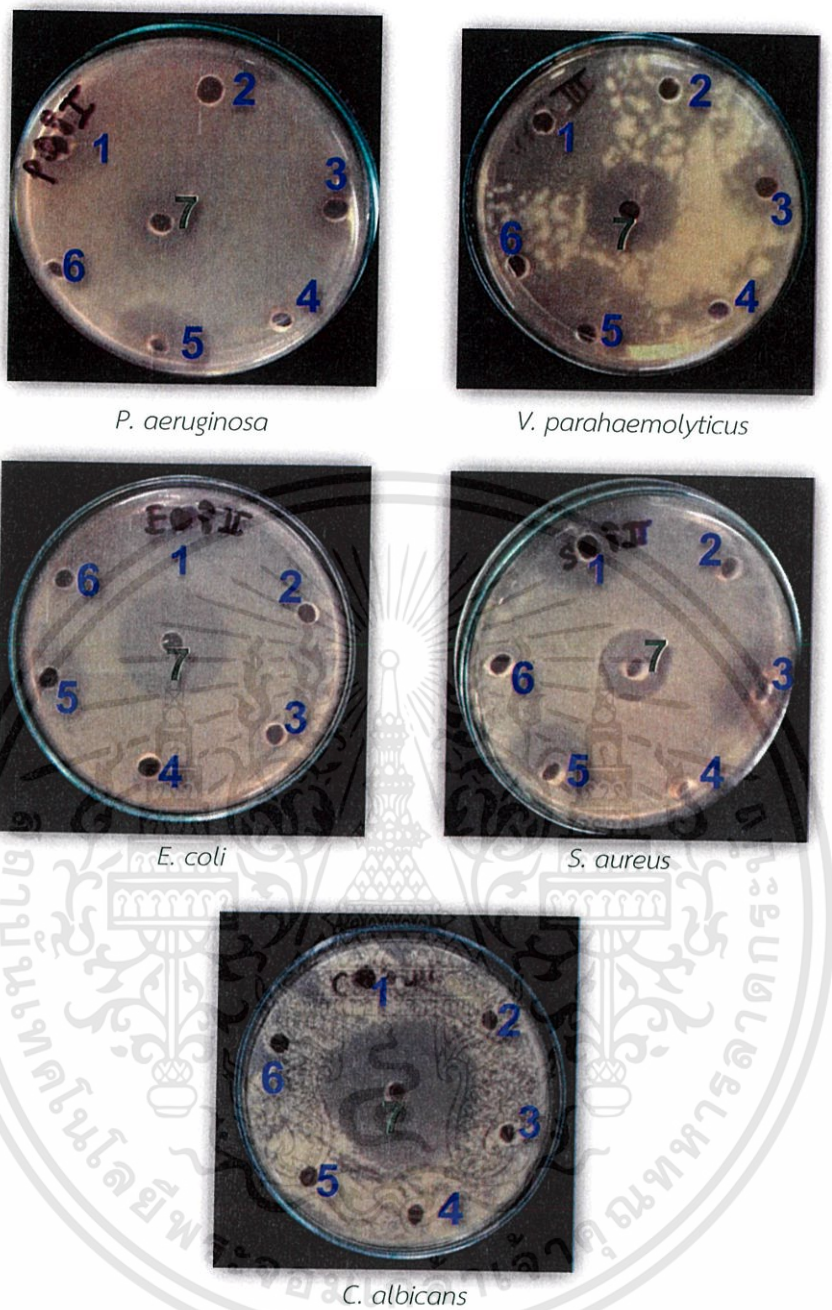
เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 ฤทธิ์ของคอมบูชาที่ได้จากการหมักชาดำ ชาเขียว และชาขิงต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *P. aeruginosa* *V. parahaemolyticus* *E. coli* *S. aureus* และ *C. albicans* ตามลำดับ ในวันที่ 15

1. ชาขิง ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 15 วัน
2. ชาเขียว ไม่ผ่านการหมัก
3. ชาเขียว ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 15 วัน
4. ชาดำ ไม่ผ่านการหมัก
5. ชาดำ ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 15 วัน
6. ชาขิง ไม่ผ่านการหมัก
7. ยาปฏิชีวนะ Vancomycin สำหรับ *S. aureus* , Gentamycin สำหรับ *V. parahaemolyticus* *E. coli* *P. aeruginosa* และ Ketoconazole สำหรับ *C. albicans*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ฤทธิ์ของคอมบูชาที่ได้จากการหมักชาดำ ชาเขียว และชาขิงต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *P. aeruginosa* *V. parahaemolyticus* *E. coli* *S. aureus* และ *C. albicans* ตามลำดับ ในวันที่ 20

1. ชาขิง ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 20 วัน
2. ชาเขียว ไม่ผ่านการหมัก
3. ชาเขียว ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 20 วัน
4. ชาดำ ไม่ผ่านการหมัก
5. ชาดำ ที่ผ่านการหมักเป็นเวลา 20 วัน
6. ชาขิง ไม่ผ่านการหมัก
7. ยาปฏิชีวนะ Vancomycin สำหรับ *S. aureus* Gentamycin สำหรับ *V. parahaemolyticus* *E. coli* *P. aeruginosa* และ Ketoconazole สำหรับ *C. albicans*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 4.5 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จากคอมบูชาที่ได้จากชาดำ ชาเขียว และชาขิง

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	ชนิดของชาหมัก	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณวงใส (มิลลิเมตร±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)				
		แบคทีเรียแกรมลบ			แบคทีเรียแกรมบวก	เชื้อยีสต์
		E. coli	*P. aeruginosa*	*V. parahaemolyticus*	*S. aureus*	*C. albicans*
0	ชาดำ	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00
	ชาเขียว	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00
	ชาขิง	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00
	ยาปฏิชีวนะ	30.66^{a}±1.91	16.28^{e}±1.89	28.62^{b}±3.52	20.24^{d}±0.94	26.71^{c}±2.49
5	ชาดำ	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00
	ชาเขียว	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00
	ชาขิง	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00
	ยาปฏิชีวนะ	30.09^{a}±1.05	18.07^{b}±1.19	27.36^{b}±1.19	22.20^{c}±3.04	26.57^{b}±3.04
10	ชาดำ	6.00^{c}±0.00	15.80^{a}±2.62	6.00^{c}±0.00	13.14^{b}±1.37	6.00^{c}±0.00
	ชาเขียว	14.35^{b}±2.01	16.52^{a}±1.67	14.59^{b}±1.91	13.45^{b}±2.01	6.00^{c}±0.00
	ชาขิง	12.83^{b}±1.73	16.20^{a}±3.89	6.00^{c}±0.00	6.00^{c} ±0.00	6.00^{c} ±0.00
	ยาปฏิชีวนะ	31.94^{a}±1.52	17.88^{d}±1.15	25.28^{b}±2.50	20.57^{c}±2.14	32.32^{a}±2.23
15	ชาดำ	16.27^{b}±2.53	21.27^{a}±3.74	16.90^{b}±3.02	16.64^{b}±3.28	6.00^{c} ±0.00
	ชาเขียว	17.90^{b}±2.01	24.20^{a} ±5.66	22.32^{a}±5.38	17.38^{b}±2.11	6.00^{c} ±0.00
	ชาขิง	14.10^{b}±4.14	20.59^{b}±2.44	15.51^{b}±2.84	16.11^{b}±2.91	6.00^{c}±0.00
	ยาปฏิชีวนะ	31.30^{a}±1.11	15.82^{d}±1.50	27.25^{b}±4.66	19.24^{c}±1.20	29.83^{a}±2.57
20	ชาดำ	21.41^{b}±3.66	22.54^{b}±3.00	23.47^{a}±6.49	15.52^{b}±3.50	6.00^{c} ±0.00
	ชาเขียว	23.56^{b}±1.90	26.33^{b}±3.37	30.95^{a}±5.71	23.66^{b}±5.80	6.00^{c} ±0.00
	ชาขิง	19.42^{b}±5.34	23.19^{a}±10.04	29.32^{a}±9.95	21.60^{b}±6.62	6.00^{c} ±0.00
	ยาปฏิชีวนะ	32.07^{b}±2.00	22.57^{c}±5.92	24.61^{c}±1.82	22.34^{c}±3.68	34.72^{a}±2.40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ

- การวิเคราะห์ทางสถิติ พิจารณาในแต่ละวันของการหมัก
- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ค่าเฉลี่ยจาก 15 ซ้ำ เส้นผ่านศูนย์กลางของหลุมที่เจาะ 6 มิลลิเมตร

4.3 การทดสอบคุณภาพของน้ำหมักคอมบูชาโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส

4.3.1 การทดสอบทางประสาทสัมผัสก่อนปรับปรุงรสชาติ

นำคอมบูชาที่ได้จากการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิง ในวันที่ 5 10 15 และ 20 ของการหมัก ทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบชิม 20 คน ผู้ทดสอบส่วนใหญ่จะให้คะแนนด้านความใส สี ความเปรี้ยว ความหวาน ความกลมกล่อม และความชอบโดยรวมของคอมบูชาทั้งสามชนิดในวันที่ 5 ของการหมักสูงกว่าคอมบูชาที่หมักได้จากวันที่ 10 15 และ 20 แสดงดังตารางที่ 4.6 - 4.8 อาจเนื่องจากเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำตาลลดลง และปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น มีผลต่อผลิตภัณฑ์ชาหมักที่ได้ทำให้มีรสชาติเปรี้ยวมีกลิ่นกรดอะซิติกสูง ความหวานลดลง ทำให้คะแนนการยอมรับในผลิตภัณฑ์ชาหมักลดลงตามไปด้วย

ตาราง 4.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาที่หมักจากชาดำก่อนปรับปรุงรสชาติในวันที่ 0 5 10 15 และ 20 ของการหมัก

ตัวอย่างชาหมักวันที่	ระดับความพึงพอใจ						
	ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
5	$6.55^{a} \pm 1.43$	$6.40^{a} \pm 1.27$	$6.00^{a} \pm 1.81$	$6.30^{a} \pm 1.63$	$6.35^{a} \pm 1.38$	$6.10^{a} \pm 1.83$	$6.60^{a} \pm 1.70$
10	$6.65^{a} \pm 1.31$	$6.55^{a} \pm 1.28$	$4.75^{ab} \pm 1.89$	$4.35^{b} \pm 2.35$	$3.80^{b} \pm 2.07$	$4.25^{b} \pm 2.38$	$4.70^{b} \pm 2.23$
15	$6.40^{a} \pm 1.93$	$6.35^{a} \pm 1.27$	$4.10^{bc} \pm 2.50$	$3.30^{bc} \pm 2.54$	$2.75^{bc} \pm 1.83$	$2.80^{c} \pm 1.57$	$3.15^{c} \pm 1.63$
20	$6.40^{a} \pm 1.79$	$6.20^{a} \pm 1.71$	$3.05^{c} \pm 2.38$	$2.80^{c} \pm 2.53$	$2.00^{c} \pm 1.52$	$2.55^{c} \pm 2.04$	$2.55^{c} \pm 1.40$

หมายเหตุ

- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 20 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 4.7 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาที่หมักจากชาเขียวก่อนปรับปรุงรสชาติ ในวันที่ 0 5 10 15 และ 20

ตัวอย่างชาหมักวันที่	ระดับความพึงพอใจ						
	ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
5	7.00^{a}±1.23	7.30±1.22	6.30^{a}±1.66	6.35^{a}±1.63	6.50^{a}±1.93	6.60^{a}±2.06	6.75^{a}±1.55
10	7.20^{a}±1.47	7.05^{ab}±1.43	5.60^{ab}±1.88	5.60^{ab}±1.54	5.90^{a}±1.65	5.75^{ab}±1.86	6.30^{ab}±1.30
15	6.75^{a}±1.92	6.85^{ab}±1.53	5.15^{ab}±2.32	4.85^{bc}±1.95	4.70^{b}±1.75	4.70^{b}±1.81	5.30^{b}±2.06
20	6.55^{a}±2.06	6.20^{b}±1.88	4.75^{b}±2.61	3.85^{c}±2.35	3.70^{b}±1.66	3.30^{c}±1.46	4.10^{c}±1.92

หมายเหตุ

- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 20 ซ้ำ

ตาราง 4.8 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาที่หมักจากชาขิงก่อนปรับปรุงรสชาติ ในวันที่ 0 5 10 15 และ 20

ตัวอย่างชาหมักวันที่	ระดับความพึงพอใจ						
	ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
5	6.80^{a}±1.61	6.85^{a}±1.35	4.80^{a}±2.55	6.10^{a}±2.05	5.60^{a}±2.23	5.75^{a}±1.71	6.00^{a}±1.14
10	6.95^{a}±1.43	6.75^{a}±1.37	4.05^{a}±1.93	3.90^{b}±2.32	3.60^{b}±1.96	3.45^{b}±1.91	4.00^{b}±1.78
15	6.70^{a}±1.49	6.45^{a}±1.15	3.85^{a}±2.37	3.55^{b}±2.28	2.40^{c}±1.35	2.56^{bc}±1.63	3.15^{bc}±1.76
20	6.30^{a}±1.87	6.30^{a}±1.42	4.00^{a}±2.80	3.30^{b}±3.08	1.65^{c}±1.14	2.25^{c}±1.62	2.80^{c}±1.91

หมายเหตุ

- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 20 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 หลังปรับปรุงรสชาติ

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากชาดำ ชาเขียว และชาขิง พบว่าผู้ทดสอบชิมมีความชอบในคอมบูชาทั้งสามชนิดในวันที่ 5 ของการหมัก แต่จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์พบว่า คอมบูชาทั้งสามชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อได้ดีในช่วง 10 - 20 วัน เพื่อให้การดื่มคอมบูชามีประโยชน์ต่อสุขภาพ จึงได้นำคอมบูชาที่ได้จากการหมักชาดำ ชาเขียว และชาขิง ในวันที่ 10 และ 15 ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้สูง และมีรสชาติที่สามารถนำมาปรับปรุงรสชาติให้ดีขึ้นได้ นำมาศึกษาการปรับปรุงรสชาติโดยนำคอมบูชาจากชาดำ ชาเขียว และชาขิง 10 (1,000 มิลลิลิตร) ส่วน มาผสมน้ำผึ้ง 1 ส่วน (100 มิลลิลิตร) จากนั้นนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสอีกครั้ง โดยใช้ผู้ทดสอบคนเดิม ผลการศึกษาพบว่า ชาดำ ชาเขียว และชาขิงที่หมักเป็นเวลา 10 วัน จะให้คะแนนด้านความใส สี กลิ่นน้ำส้มสายชู ความเปรี้ยว ความหวาน ความกลมกล่อม และความชอบโดยรวมสูงกว่าชาดำ ชาเขียว และชาขิงที่หมัก 15 วัน แสดงดังตารางที่4.9

ตารางที่ 4.9 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาหลังการปรับปรุงรสชาติ

ตัวอย่าง	คะแนนความพึงพอใจ						
	ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
ผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด	$5.25^{b}\pm1.55$	$5.65^{c}\pm1.73$	$6.15^{a}\pm1.46$	$6.15^{a}\pm2.21$	$4.90^{c}\pm2.08$	$5.60^{ab}\pm2.30$	$6.10^{ab}\pm2.17$
ชาขิงที่หมักเป็นเวลา 10 วัน	$7.45^{a}\pm1.05$	$7.20^{ab}\pm1.20$	$5.65^{ab}\pm1.79$	$5.40^{a}\pm2.01$	$5.15^{bc}\pm2.11$	$5.25^{c}\pm2.02$	$5.85^{ab}\pm2.06$
ชาขิงที่หมักเป็นเวลา 15 วัน	$6.75^{a}\pm1.33$	$6.50^{bc}\pm1.43$	$5.30^{ab}\pm1.75$	$5.25^{a}\pm1.83$	$5.20^{bc}\pm2.04$	$5.20^{c}\pm1.54$	$5.35^{b}\pm1.53$
ชาเขียวที่หมักเป็นเวลา 10 วัน	$6.65^{a}\pm1.63$	$6.60^{b}\pm1.47$	$5.60^{ab}\pm1.67$	$5.65^{a}\pm1.56$	$6.20^{ab}\pm1.51$	$6.05^{ab}\pm1.47$	$6.40^{ab}\pm1.35$
ชาเขียวที่หมักเป็นเวลา 15 วัน	$7.65^{a}\pm1.31$	$7.65^{a}\pm1.09$	$5.25^{ab}\pm1.74$	$4.95^{a}\pm1.93$	$4.75^{c}\pm1.94$	$5.05^{c}\pm1.82$	$5.40^{b}\pm1.79$
ชาดำที่หมักเป็นเวลา 10 วัน	$6.95^{a}\pm1.36$	$7.15^{ab}\pm1.46$	$4.80^{b}\pm1.06$	$5.30^{a}\pm1.81$	$5.15^{bc}\pm1.09$	$5.50^{c}\pm1.61$	$6.90^{a}\pm1.37$
ชาดำที่หมักเป็นเวลา 15 วัน	$6.80^{a}\pm1.64$	$6.95^{ab}\pm1.19$	$5.65^{ab}\pm1.69$	$6.15^{a}\pm1.53$	$6.65^{a}\pm1.50$	$6.75^{a}\pm1.62$	$5.85^{ab}\pm1.31$

หมายเหตุ

- ^{abc} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 20 ซ้ำ

ในการศึกษานี้ยังไม่ได้ศึกษาหลังการปรับปรุงรสชาติของคอมบูชาจากการหมักชาชนิดต่างๆ หมักเป็นเวลา 10 วันแล้ว ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบลดลงจากเดิมหรือเท่าเดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาชนิดของชาในการหมักคอมบูชา พบว่าในการหมักคอมบูชาเป็นเวลา 20 วัน ชาดำมีปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก) สูงกว่าชาเขียวและชาขิง โดยพบว่าวันสุดท้ายของการหมักคอมบูชาจากชาดำมีปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก) ร้อยละ 0.36 ± 0.00 ปริมาณน้ำตาลซูโครสจะลดลงตามระยะเวลาการหมัก โดยในวันสุดท้ายของการหมักคอมบูชาจากชาดำมีปริมาณน้ำตาลซูโครส 48.50 ± 1.51 กรัมต่อลิตร ชาเขียวมีปริมาณน้ำตาลซูโครส 50.83 ± 0.83 กรัมต่อลิตรและชาขิงมีปริมาณน้ำตาลซูโครส 52.42 ± 2.33 กรัมต่อลิตร

จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Agar well diffusion พบว่าคอมบูชาจากการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้ดีที่สุดโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส 23.47 ± 6.49 30.95 ± 5.71 และ 29.32 ± 9.95 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในการหมัก 20 วัน คอมบูชาจากการหมักจากชาเขียวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้สูงกว่าชาดำและชาขิง และคอมบูชาจากการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิงไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ในทุกระยะเวลาของการหมัก

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคอมบูชาจากชาดำ ชาเขียวและชาขิงที่หมักในวันที่ 5 10 15 และ 20 พบว่า คอมบูชาจากการหมักชาทั้งสามชนิดผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบโดยรวมมากที่สุดในคอมบูชาที่หมักเป็นเวลา 5 วัน เมื่อนำคอมบูชาจากชาดำ ชาเขียว และชาขิง ที่หมักเป็นเวลา 10 และ 15 วัน มาปรับปรุงรสชาติโดยเติมน้ำผึ้ง 0.4 (40 มิลลิลิตร) ส่วน ต่อชา (1,000 มิลลิลิตร) 10 ส่วน พบว่าคอมบูชาที่หมักจากชาดำเป็นเวลา 10 วัน มีคะแนนความชอบโดยรวมมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จิราภรณ์ บุราคร และเรือนแก้ว ประพฤติ. 2555. ผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. 10(1): 11-22

ฐาปนี จิตภักดี และ ศิริกานต์ กันทาใจ. 2543. การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่ผลิตสารยับยั้งแบคทีเรีย. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2555. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: วี.เจ.พริ้นติ้ง.

ดร.เอิร์ล มินเดลล์. หนังสือวิตามินไบเบิล. สารสกัดจากชาเขียว(Green tea extract). หน้า 252-253.

ทรงชัย หนุนชู. 2554. กลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์และการทำลายจุลินทรีย์. [Online]. เข้าถึงได้จาก :http://www.thaieditorial.com/กลไกการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์การยับยั้งและการทำลายจุลินทรีย์

ธีรวุฒิ หวังอำนวยพร และ รัชนี ไสยประจง. 2550. ความสามารถในการต้านจุลินทรีย์และต้านสารอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรไทยบางชนิด.

นเรศ วโรภาสตระกูล. 2553. Candidosis. [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://microbio.md. kku. ac.th/site_data/mykku_microbio/3/Lecture/CandidiasisThai.pdf

นิรมล อุตมอ่าง. 2553. การพัฒนากรรมวิธีการทำแห้งชาเขียว และสมุนไพรขมิ้นชันด้วยเทคโนโลยี. [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://202.28.24.38/agroresearch/detail_research?id=90

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2537. การกำจัดและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์. จุลชีววิทยาสำหรับพยาบาลศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์. สำนักพิมพ์ โอเดียนสโตร์ . หน้า 1-18

ประภัสสร สุรวัฒนาวรรณ. 2557. ชาเขียว. [Online]. เข้าถึงได้จาก : http: //www.gpo.or.th/greentea.html.

ประสาทพร บริสุทธิ์ดพ็ชร, พิทัย กาญบุตร และสาธร พรตระกูลพิพัฒน์. 2551. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ. สัตวแพทย์ทางเลือกวันนี้. ประชุมวิชาการสัตวแพทย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 9: 91-101

พรรัตน์ สินชัยพาณิชย์.(2550) เครื่องดื่มชาหมัก. วารสารอาหาร. 37(1), 33-38

วิมลรัตน์ วรรณพฤกษ์. 2551. 100 สุดยอดสมุนไพรบำรุงสุขภาพ. กรุงเทพฯ : เพชรประกาย

สถาบันชา มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง. 2554. กระบวนการผลิตชา. [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://teainstitutemfu.com/main/blog/กระบวนการผลิตชา/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สิริรุ่ง วงศ์สกุล และ ธีรพงษ์ เทพกรณ์. 2550. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากชาเขียว ชาดำ และเมี่ยง. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

Battikha, lt., Bakhrouf, A and Ammar, E. 2011. Antimicrobial effect of Kombucha analogues. LWT-Food Science and Technology, 47: 71-77

Chen, C and Liu, B.Y. 2000. Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. Journal of Applied Microbiology, 89: 834-839

Deghrigue,M., Chriaa,J., Battikh,H., Abid,K and Bakhrouf, A. 2013. Antiproliferative and antimicrobial activities of kombucha tea. African Journal of Microbiology Research, 7(27): 3466-3470

Derek S.W. and William J. W. 2004. The Medicinal Chemistry of Tea. Drug development research, 61: 45–65

Dufresne, C., Farnworth, E. 2000. Tea, Kombucha, and health: a review. Food Research International, 33: 409-421

Eric W.C. Chan, Eu Ying Soh, Pei Pei Tie, and Yon Peng Law. 2011. Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis* Pharmacognosy Research, 3: 266-272

Hoon,L.Y., Choo, C., Watawana,I.M., Jayawardena,N.,Waisundara,V.Y. 2014. Kombucha 'tea fungus' enhances the tea polyphenol contents, antioxidant activity and alpha-amylase inhibitory activity of five commonly consumed teas. Journal of Functional Foods.

Ko, CH., Lau, KM., Choy, WY and Leung PC. 2009. Effects of tea catechins, epigallocatechin, gallocatechin, and gallocatechin gallate, on bone metabolism. Journal of agricultural and food chemistry, 57: 7293–7297

Kukharenko,O., Bardeau,J.F., Zaets ,I., Ovcharenko ,L., Tarasyuk, O., Porhyn, S., Mischenko, I., Vovk, A., Rogalsky, S., Kozyrovska, N. 2014. Promising low cost antimicrobial composite material basedon bacterial cellulose and polyhexamethylene guanidine Hydrochloride. European Polymer Journal, 60: 247-254

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pure, A.E., Pure, M.E. 2016. Antioxidant and Antibacterial Activity of Kombucha Beverages Prepared using Banana Peel, Common Nettles and Black Tea Infusions. APPLIED FOOD BIOTECHNOLOGY, 3(2): 125-130

Singh,R., Muftah A.M. Shushni and Belkheir,A. 2015. Antibacterial and antioxidant activities of Mentha piperita L. Arabian Journal of Chemistry, 8: 322-328

Sreeramulu, G., Zhu, Y. and Knol, W. 2000. Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. Journal of agricultural and food chemistry, 48: 2589–2594

Stag and Millin. 1975 กระบวนการผลิตชาหมักคอมบูชา. [online]. Available: http://yaamata .blogspot.com/2011/10/kombucha.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ Mueller Hinton Agar (MHA)

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ และใส่วุ้น (Agar) ร้อยละ 1.5 ละลายให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ

2. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ Mueller Hinton Broth (MHB)

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ

3. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ

4. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ Sabouraud Dextrose Broth (SDB)

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสำเร็จ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งอัดไอน้ำ

5. ไฮโดรคลอริก

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮโดรคลอริก (HCL) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ดูดสารละลาย conc. HCL (ร้อยละ 35-38 น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ปริมาตร 4.25 มิลลิลิตร โดยใช้ปิเปตถ่ายใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีน้ำอยู่แล้ว แล้วค่อยปรับปริมาตรจนครบ 500 มิลลิลิตร

6. โซเดียมไฮดรอกไซด์

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร NaOH มีมวลโมเลกุล 39.99 กรัมต่อโมล และมีค่าความหนาแน่นเท่ากับ 2.13 กรัมต่อมิลลิลิตร

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

เมื่อ g คือ น้ำหนักของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ต้องการ

MW คือ มวลโมเลกุลของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (39.99 กรัมต่อโมล)

C คือ ความเข้มข้น (2 โมลาร์)

V คือ ปริมาตร หน่วยเป็น มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ดังนั้น ปริมาณ NaOH ที่ต้องชั่ง (กรัม)} = \frac{2X1,000X39.99}{1,000}$$

$$= 79.98 \text{ กรัม}$$

ดังนั้นสามารถเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ได้โดยการชั่ง NaOH มา 79.98 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

7. ฟีนอร์ฟทาลีน

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์ทางเคมีและเครื่องมือวิเคราะห์

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลซูโครสโดยวิธีดัดแปลงวิธีดีเอ็นเอส (Dinitrosalicylic Method)

สารเคมี

1. สารละลาย 3,5-dinitrosalicylic (DNS) ร้อยละ 1
2. สารละลายซูโครสมาตรฐาน

วิธีการเตรียมสารละลาย

1. สารละลาย 3,5-dinitrosalicylic (DNS) ร้อยละ 1
   - ชั่งสาร 3,5-dinitrosalicylic 10 กรัม ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร
   - เติมสารละลายด่างทีละน้อย (โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 16 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร)
   - คนให้สารละลายเข้ากันหมด จนกระทั่งได้สารละลายใส
   - เติมโพแทสเซียมโซเดียมทาเทรตลงไปทีละน้อยจนครบ 300 กรัม ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

2. สารละลายซูโครสมาตรฐาน
   - อบซูโครสที่ตู้อบ 70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์
   - ชั่งซูโครสที่ผ่านการอบ 0.1 กรัม ละลายให้น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ได้สารละลายซูโครสมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
   - เจือจางสารละลายซูโครสที่ได้โดยใช้น้ำกลั่นตามตาราง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-1 ตารางแสดงระดับการเจือจางสารละลายซูโครสโดยใช้น้ำกลั่น

ความเข้มข้นซูโครส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาตรซูโครส (มิลลิลิตร)	ปริมาตรน้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
0	-	5
100	0.5	4.5
200	1	4
400	2	3
600	3	2
800	4	1
1000	5	-

วิธีการวิเคราะห์

1. การทำกราฟมาตรฐาน

1.1 นำสารละลายซูโครสมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0 100 200 400 600 800 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

1.2 ปิเปตสารละลายซูโครสมาตรฐานแต่ละความเจือจางใส่ในหลอดทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

1.3 หยดสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 หยด นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที

1.4 จากนั้นนำมาหยดสารละลายเบสโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 3 หยด และปิเปตสารละลาย DNS reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายซูโครส

1.5 ปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 6 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่ผ่านการต้มแล้ว ผสมให้เข้ากัน

1.6 นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร พร้อมนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส

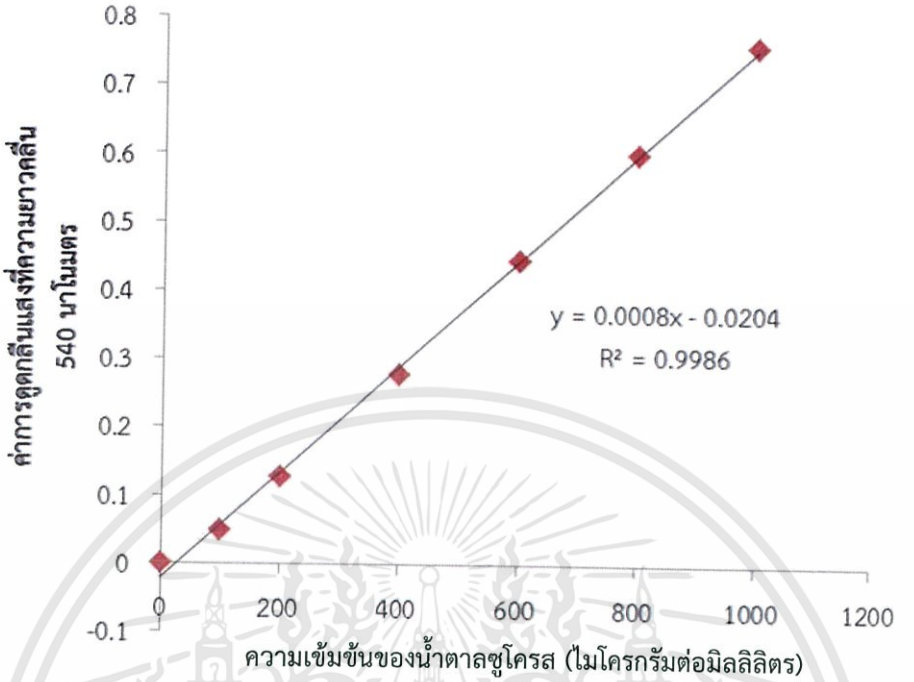
2. หาปริมาณน้ำตาลซูโครสในตัวอย่าง

2.1 นำตัวอย่างมาทำการเจือจางให้เหมาะสม

2.2 ทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลซูโครสเช่นเดียวกับการทำกราฟมาตรฐาน

$$\text{ปริมาณน้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)} = \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น } 540 \text{ นาโนเมตร}) \; x \; \text{อัตราการเจือจาง}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน } x \; 1{,}000}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานซูโครสโดยดัดแปลงวิธีดีเอ็นเอสที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ข้อมูลดิบ

ตารางที่ ค-1 ค่าพีเอชของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิง ที่มีความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตร ความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	pH ของน้ำหมัก								
	ชาดำ			ชาเขียว			ชาขิง		
	3 ซ้ำ	ค่าเฉลี่ย	SD	3 ซ้ำ	ค่าเฉลี่ย	SD	3 ซ้ำ	ค่าเฉลี่ย	SD
0	3.51	3.43	0.08	3.76	3.92	0.24	3.57	3.58	0.29
	3.43			3.81			3.87		
	3.36			4.20			3.29		
5	2.77	2.74	0.03	3.31	3.34	0.03	2.84	2.93	0.10
	2.72			3.36			3.03		
	2.73			3.35			2.92		
10	2.19	2.18	0.01	2.72	2.75	0.02	2.37	2.34	0.03
	2.18			2.76			2.34		
	2.17			2.76			2.31		
15	2.09	2.12	0.03	2.43	2.52	0.09	2.23	2.23	0.02
	2.15			2.52			2.21		
	2.13			2.60			2.24		
20	1.71	1.72	0.04	2.05	2.09	0.04	1.89	1.88	0.02
	1.76			2.09			1.86		
	1.69			2.13			1.89		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-2 ปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดอะซิติก) ของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิง ที่ความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 น้ำหนักต่อปริมาตรและความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติกของน้ำหมัก (ร้อยละ)								
	ชาดำ			ชาเขียว			ชาขิง		
	3 ซ้ำ	ค่าเฉลี่ย	SD	3 ซ้ำ	ค่าเฉลี่ย	SD	3 ซ้ำ	ค่าเฉลี่ย	SD
0	0.015	0.012	0.003	0.012	0.012	0.006	0.012	0.010	0.003
	0.012			0.006			0.012		
	0.009			0.018			0.006		
5	0.078	0.086	0.007	0.060	0.080	0.062	0.060	0.050	0.012
	0.090			0.030			0.036		
	0.090			0.150			0.054		
10	0.141	0.134	0.006	0.042	0.038	0.003	0.117	0.114	0.003
	0.132			0.036			0.111		
	0.129			0.036			0.114		
15	0.240	0.250	0.009	0.078	0.070	0.014	0.174	0.172	0.003
	0.252			0.078			0.168		
	0.258			0.054			0.174		
20	0.360	0.356	0.007	0.150	0.134	0.015	0.282	0.292	0.023
	0.360			0.132			0.318		
	0.348			0.120			0.276		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-3 แสดงปริมาณน้ำตาลซูโครสของการหมักชาดำ ชาเขียวและชาขิง ที่มีความเข้มข้นของชาร้อยละ 4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 20 วัน

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	ปริมาณน้ำตาลซูโครสของน้ำหมัก (กรัม)														
	ชาดำ					ชาเขียว					ชาขิง				
	3 ซ้ำ			ค่าเฉลี่ย	SD	3 ซ้ำ			ค่าเฉลี่ย	SD	3 ซ้ำ			ค่าเฉลี่ย	SD
	OD		sucrose			OD		sucrose			OD		sucrose		
	OD เริ่มต้น	dilution factor				OD เริ่มต้น	dilution factor				OD เริ่มต้น	dilution factor			
0	0.20	500	122.50	116.46	9.40	0.36	300	135.38	129.63	7.51	0.22	500	137.50	124.38	13.45
	0.17	500	105.63			0.32	300	121.13			0.18	500	110.63		
	0.19	500	121.25			0.35	300	132.38			0.20	500	125.00		
5	0.31	200	77.50	78.33	1.44	0.47	200	117.50	124.17	7.64	0.36	200	90.00	90.67	4.29
	0.32	200	80.00			0.53	200	132.50			0.38	200	95.25		
	0.31	200	77.50			0.49	200	122.50			0.35	200	86.75		
10	0.28	200	70.00	67.50	9.01	0.26	200	65.00	68.33	5.77	0.33	200	81.75	81.75	4.00
	0.23	200	57.50			0.30	200	75.00			0.34	200	85.75		
	0.30	200	75.00			0.26	200	65.00			0.31	200	77.75		
15	0.28	200	69.25	70.00	1.09	0.36	300	135.38	135.88	8.64	0.30	200	73.75	74.25	8.26
	0.28	200	69.50			0.39	300	144.75			0.27	200	66.25		
	0.29	200	71.25			0.34	300	127.50			0.33	200	82.75		
20	0.19	200	47.25	48.50	2.61	0.49	200	121.25	133.08	10.40	0.19	200	47.75	52.42	4.04
	0.21	200	51.50			0.56	200	140.75			0.22	200	54.75		
	0.19	200	46.75			0.55	200	137.25			0.22	200	54.75		

ตารางที่ ค-4 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 0

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
E. coli	6.00±0.000	31.13[e]±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.58[e] ±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.22[e] ±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.43[e] ±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.49[e] ±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.27[e] ±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.71[e] ±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.65[e] ±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.06[e] ±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.83[e] ±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.44[e] ±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.81[e] ±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.17[e] ±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.07[e] ±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.52[e] ±0.493	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-5 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 0

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
P. aeruginosa	6.00±0.000	16.21[a]±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	15.82[a] ±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	16.08[a] ±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	14.86[a] ±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	13.15[a] ±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.11[a] ±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	14.40[a] ±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	18.96[a] ±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	16.62[a] ±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.03[a] ±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	16.68[a] ±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	13.48[a] ±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	15.24[a] ±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	17.83[a] ±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	16.80[a] ±0.489	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-6 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 0

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
V. parahaemolyticus	6.00±0.000	23.73^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	37.16^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.80^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	27.99^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.59^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.29^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	24.64^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.88^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.63^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.22^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.48^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.68^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.50^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.63^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.11^{d}± 0.909	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-7 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 0

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
S. aureus	6.00±0.000	20.03[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.75[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.58[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	18.69[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.13[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	21.99[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	21.99[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.23[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.27[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.30[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.17[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.18[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.17[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.75[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.32[b]±0.242	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-8 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 0

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
C. albicans	6.00±0.000	25.69^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	26.10^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	21.10^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.74^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.77^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	27.21^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	26.70^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	27.49^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.45^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.07^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	26.11^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.85^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.75^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.39^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	27.21^{c} ± 0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-9 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 5

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
E. coli	6.00±0.000	31.13^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.58^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.22^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.43^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.49^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.27^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.71^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.65^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.06^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.83^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.44^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.81^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.17^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.07^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.52^{C} ±0.270	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-10 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 5

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
P. aeruginosa	6.00±0.000	28.05[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	27.88[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	27.17[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.49[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.58[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	27.71[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.13[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	27.41[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	26.88[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.78[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.96[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.23[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.06[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.42[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.33[b]±0.307	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-11 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 5

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
V. parahaemolyticus	6.00±0.000	27.16[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	23.73[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.80[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	27.99[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.59[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.27[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.64[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.22[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.88[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.63[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.48[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.17[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.68[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.50[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.63[b]±0.917	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-12 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 5

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
S. aureus	6.00±0.000	25.56[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	26.67[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.32[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	24.53[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.17[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	24.81[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	21.73[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.75[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.23[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.27[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.62[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.58[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	21.99[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	26.67[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.13[a] ±0.692	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-13 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 5

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
C. albicans	6.00±0.000	25.32[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.73[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	21.42[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.54[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	26.16[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.15[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.22[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.35[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	22.55[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.89[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.98[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.95[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	23.65[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	22.70[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.96[b] ±0.785	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-14 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่10

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
E. coli	6.00±0.000	31.54^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	17.67^{b} ± 0.520	6.00±0.000	12.21^{b} ±0.445	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.71^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	14.27^{b} ± 0.520	6.00±0.000	16.99^{b} ±0.445	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.99^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	15.69^{b} ± 0.520	6.00±0.000	11.58^{b} ±0.445	6.00±0.000
	6.00±0.000	33.03^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	14.65^{b} ± 0.520	6.00±0.000	12.67^{b} ±0.445	6.00±0.000
	6.00±0.000	33.98^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	15.72^{b} ± 0.520	6.00±0.000	10.89^{b} ±0.445	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.90^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	10.14^{b} ± 0.520	6.00±0.000	11.64^{b} ±0.445	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.96^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	13.56^{b} ± 0.520	6.00±0.000	12.95^{b} ±0.445	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.72^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	12.84^{b} ± 0.520	6.00±0.000	11.61^{b} ±0.445	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.49^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	12.15^{b} ± 0.520	6.00±0.000	11.26^{b} ±0.445	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.77^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	17.23^{b} ± 0.520	6.00±0.000	12.68^{b} ±0.445	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.30^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	16.32^{b} ± 0.520	6.00±0.000	15.57^{b} ±0.445	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.86^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	14.81^{b} ± 0.520	6.00±0.000	14.56^{b} ±0.445	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.30^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	13.22^{b} ± 0.520	6.00±0.000	13.76^{b} ±0.445	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.31^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	14.26^{b} ± 0.520	6.00±0.000	12.63^{b} ±0.445	6.00±0.000
	6.00±0.000	34.17^{d} ± 0.392	6.00±0.000	6.00±0.000	12.67^{b} ± 0.520	6.00±0.000	11.45^{b} ±0.445	6.00±0.000

ตารางที่ ค-15 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 10

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
P. aeruginosa	6.00±0.000	18.04^{a}±0.296	10.57^{c}±0.676	6.00±0.000	18.48^{b}±0.492	6.00±0.000	17.86^{c}±1.005	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.02^{a}±0.296	16.17^{c}±0.676	6.00±0.000	18.81^{b}±0.492	6.00±0.000	14.49^{c}±1.005	6.00±0.000
	6.00±0.000	18.57^{a}±0.296	12.51^{c}±0.676	6.00±0.000	16.38^{b}±0.492	6.00±0.000	15.16^{c}±1.005	6.00±0.000
	6.00±0.000	17.30^{a}±0.296	17.52^{c}±0.676	6.00±0.000	16.17^{b}±0.492	6.00±0.000	13.15^{c}±1.005	6.00±0.000
	6.00±0.000	17.42^{a}±0.296	18.13^{c}±0.676	6.00±0.000	12.51^{b}±0.492	6.00±0.000	10.76^{c}±1.005	6.00±0.000
	6.00±0.000	17.68^{a}±0.296	18.76^{c}±0.676	6.00±0.000	17.52^{b}±0.492	6.00±0.000	28.70^{c}±1.005	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.54^{a}±0.296	17.53^{c}±0.676	6.00±0.000	18.13^{b}±0.492	6.00±0.000	14.61^{c}±1.005	6.00±0.000
	6.00±0.000	17.21^{a}±0.296	12.79^{c}±0.676	6.00±0.000	15.23^{b}±0.492	6.00±0.000	15.61^{c}±1.005	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.30^{a}±0.296	13.76^{c}±0.676	6.00±0.000	14.69^{b}±0.492	6.00±0.000	16.94^{c}±1.005	6.00±0.000
	6.00±0.000	17.70^{a}±0.296	17.82^{c}±0.676	6.00±0.000	15.72^{b}±0.492	6.00±0.000	15.49^{c}±1.005	6.00±0.000
	6.00±0.000	14.89^{a}±0.296	19.11^{c}±0.676	6.00±0.000	16.87^{b}±0.492	6.00±0.000	14.75^{c}±1.005	6.00±0.000
	6.00±0.000	17.33^{a}±0.296	17.23^{c}±0.676	6.00±0.000	16.53^{b}±0.492	6.00±0.000	17.00^{c}±1.005	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.02^{a}±0.296	13.52^{c}±0.676	6.00±0.000	17.14^{b}±0.492	6.00±0.000	16.94^{c}±1.005	6.00±0.000
	6.00±0.000	17.78^{a}±0.296	14.75^{c}±0.676	6.00±0.000	18.21^{b}±0.492	6.00±0.000	14.65^{c}±1.005	6.00±0.000
	6.00±0.000	17.42^{a}±0.296	16.78^{c}±0.676	6.00±0.000	15.43^{b}±0.492	6.00±0.000	16.94^{c}±1.005	6.00±0.000

ตารางที่ ค-16 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 10

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
V. paraheamolyticus	6.00±0.000	26.45^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	24.67^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	26.77^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	23.75^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	21.90^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.11^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.88^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.36^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.72^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	22.55^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	23.61^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	22.81^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	23.84^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	24.27^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.48^{c}±0.645	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-17 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 10

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
S. aureus	6.00±0.000	18.85^{b}±0.552	14.27^{b}±0.353	6.00±0.000	10.17^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	18.75^{b}±0.552	12.31^{b}±0.353	6.00±0.000	11.21^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	16.48^{b}±0.552	12.18^{b}±0.353	6.00±0.000	12.27^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	18.59^{b}±0.552	13.23^{b}±0.353	6.00±0.000	17.36^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.12^{b}±0.552	13.46^{b}±0.353	6.00±0.000	16.47^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	21.77^{b}±0.552	14.47^{b}±0.353	6.00±0.000	15.72^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	21.50^{b}±0.552	12.18^{b}±0.353	6.00±0.000	14.31^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.18^{b}±0.552	13.53^{b}±0.353	6.00±0.000	14.48^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.51^{b}±0.552	14.29^{b}±0.353	6.00±0.000	12.56^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	23.35^{b}±0.552	16.13^{b}±0.353	6.00±0.000	11.45^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.05^{b}±0.552	13.46^{b}±0.353	6.00±0.000	12.44^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	23.00^{b}±0.552	12.58^{b}±0.353	6.00±0.000	14.27^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.36^{b}±0.552	12.42^{b}±0.353	6.00±0.000	12.19^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	24.91^{b}±0.552	10.23^{b}±0.353	6.00±0.000	13.33^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	21.08^{b}±0.552	12.36^{b}±0.353	6.00±0.000	13.46^{b}±0.519	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-18 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 10

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
C. albicans	6.00±0.000	36.97[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.43[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	35.12[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.32[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	33.28[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	33.16[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.21[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	33.33[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.17[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.23[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.23[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.14[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	33.52[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	34.37[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.27[d]±0.575	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-19 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 15

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
E. coli	6.00±0.000	31.22^{d}±0.287	18.27^{b}±0.654	6.00±0.000	16.25^{b}±0.519	6.00±0.000	24.18^{b}±1.069	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.02^{d}±0.287	20.72^{b}±0.654	6.00±0.000	18.05^{b}±0.519	6.00±0.000	12.21^{b}±1.069	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.01^{d}±0.287	19.98^{b}±0.654	6.00±0.000	15.91^{b}±0.519	6.00±0.000	16.99^{b}±1.069	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.32^{d}±0.287	15.22^{b}±0.654	6.00±0.000	21.63^{b}±0.519	6.00±0.000	15.80^{b}±1.069	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.72^{d}±0.287	17.38^{b}±0.654	6.00±0.000	16.20^{b}±0.519	6.00±0.000	12.36^{b}±1.069	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.72^{d}±0.287	14.91^{b}±0.654	6.00±0.000	15.53^{b}±0.519	6.00±0.000	11.02^{b}±1.069	6.00±0.000
	6.00±0.000	33.21^{d}±0.287	12.57^{b}±0.654	6.00±0.000	17.86^{b}±0.519	6.00±0.000	11.61^{b}±1.069	6.00±0.000
	6.00±0.000	33.12^{d}±0.287	15.14^{b}±0.654	6.00±0.000	17.09^{b}±0.519	6.00±0.000	11.06^{b}±1.069	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.19^{d}±0.287	12.18^{b}±0.654	6.00±0.000	20.44^{b}±0.519	6.00±0.000	14.03^{b}±1.069	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.39^{d}±0.287	17.20^{b}±0.654	6.00±0.000	17.12^{b}±0.519	6.00±0.000	15.43^{b}±1.069	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.21^{d}±0.287	18.51^{b}±0.654	6.00±0.000	19.16^{b}±0.519	6.00±0.000	12.03^{b}±1.069	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.21^{d}±0.287	13.54^{b}±0.654	6.00±0.000	14.98^{b}±0.519	6.00±0.000	11.83^{b}±1.069	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.72^{d}±0.287	14.75^{b}±0.654	6.00±0.000	20.21^{b}±0.519	6.00±0.000	10.16^{b}±1.069	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.05^{d}±0.287	16.48^{b}±0.654	6.00±0.000	18.13^{b}±0.519	6.00±0.000	21.81^{b}±1.069	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.44^{d}±0.287	17.14^{b}±0.654	6.00±0.000	19.96^{b}±0.519	6.00±0.000	11.02^{b}±1.069	6.00±0.000

ตารางที่ ค-20 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 15

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
P. aeruginosa	6.00±0.000	13.65 ^{a} ±0.387	26.01 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	28.51 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	12.32 ^{c} ±2.592	6.00±0.000
	6.00±0.000	16.06 ^{a} ±0.387	15.10 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	27.79 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	33.10 ^{c} ±2.592	6.00±0.000
	6.00±0.000	15.81 ^{a} ±0.387	20.01 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	26.96 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	33.35 ^{c} ±2.592	6.00±0.000
	6.00±0.000	14.16 ^{a} ±0.387	25.85 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	19.03 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	17.47 ^{c} ±2.592	6.00±0.000
	6.00±0.000	17.26 ^{a} ±0.387	20.71 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	23.15 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	42.22 ^{c} ±2.592	6.00±0.000
	6.00±0.000	16.71 ^{a} ±0.387	18.43 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	19.56 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	15.67 ^{c} ±2.592	6.00±0.000
	6.00±0.000	16.81 ^{a} ±0.387	26.96 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	19.26 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	15.55 ^{c} ±2.592	6.00±0.000
	6.00±0.000	13.50 ^{a} ±0.387	31.72 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	20.74 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	36.48 ^{c} ±2.592	6.00±0.000
	6.00±0.000	14.64 ^{a} ±0.387	29.39 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	20.84 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	18.81 ^{c} ±2.592	6.00±0.000
	6.00±0.000	16.49 ^{a} ±0.387	17.20 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	19.37 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	15.68 ^{c} ±2.592	6.00±0.000
	6.00±0.000	16.14 ^{a} ±0.387	31.58 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	20.82 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	25.61 ^{c} ±2.592	6.00±0.000
	6.00±0.000	13.81 ^{a} ±0.387	30.36 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	15.91 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	12.51 ^{c} ±2.592	6.00±0.000
	6.00±0.000	17.13 ^{a} ±0.387	27.17 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	18.15 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	11.72 ^{c} ±2.592	6.00±0.000
	6.00±0.000	18.27 ^{a} ±0.387	16.93 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	18.16 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	31.66 ^{c} ±2.592	6.00±0.000
	6.00±0.000	16.84 ^{a} ±0.387	25.54 ^{c} ±1.460	6.00±0.000	20.78 ^{c} ±0.965	6.00±0.000	25.64 ^{c} ±2.592	6.00±0.000

ตารางที่ ค-21 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่พบในชา ทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 15

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
V. paraheamolyticus	6.00±0.000	34.77^{c}±1.202	20.92^{c}±1.390	6.00±0.000	20.74^{b}±0.781	6.00±0.000	22.84^{b}±0.732	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.64^{c}±1.202	19.52^{c}±1.390	6.00±0.000	17.19^{b}±0.781	6.00±0.000	16.69^{b}±0.732	6.00±0.000
	6.00±0.000	35.21^{c}±1.202	15.91^{c}±1.390	6.00±0.000	17.48^{b}±0.781	6.00±0.000	19.40^{b}±0.732	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.70^{c}±1.202	32.87^{c}±1.390	6.00±0.000	15.67^{b}±0.781	6.00±0.000	16.80^{b}±0.732	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.02^{c}±1.202	14.18^{c}±1.390	6.00±0.000	11.95^{b}±0.781	6.00±0.000	15.42^{b}±0.732	6.00±0.000
	6.00±0.000	22.81^{c}±1.202	33.36^{c}±1.390	6.00±0.000	13.12^{b}±0.781	6.00±0.000	15.31^{b}±0.732	6.00±0.000
	6.00±0.000	23.99^{c}±1.202	23.34^{c}±1.390	6.00±0.000	22.20^{b}±0.781	6.00±0.000	16.32^{b}±0.732	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.93^{c}±1.202	27.22^{c}±1.390	6.00±0.000	17.28^{b}±0.781	6.00±0.000	14.52^{b}±0.732	6.00±0.000
	6.00±0.000	22.26^{c}±1.202	21.47^{c}±1.390	6.00±0.000	18.16^{b}±0.781	6.00±0.000	12.50^{b}±0.732	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.50^{c}±1.202	23.37^{c}±1.390	6.00±0.000	18.65^{b}±0.781	6.00±0.000	13.11^{b}±0.732	6.00±0.000
	6.00±0.000	22.49^{c}±1.202	22.21^{c}±1.390	6.00±0.000	20.74^{b}±0.781	6.00±0.000	15.36^{b}±0.732	6.00±0.000
	6.00±0.000	24.65^{c}±1.202	20.85^{c}±1.390	6.00±0.000	15.52^{b}±0.781	6.00±0.000	11.13^{b}±0.732	6.00±0.000
	6.00±0.000	22.12^{c}±1.202	17.75^{c}±1.390	6.00±0.000	16.50^{b}±0.781	6.00±0.000	13.50^{b}±0.732	6.00±0.000
	6.00±0.000	23.50^{c}±1.202	20.02^{c}±1.390	6.00±0.000	16.15^{b}±0.781	6.00±0.000	14.52^{b}±0.732	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.12^{c}±1.202	21.86^{c}±1.390	6.00±0.000	12.17^{b}±0.781	6.00±0.000	15.21^{b}±0.732	6.00±0.000

ตารางที่ ค-22 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 15

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
S. aureus	6.00±0.000	20.45^{b}±0.311	13.88^{b} ±0.544	6.00±0.000	17.27^{b}±0.848	6.00±0.000	18.58^{b}±0.752	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.31^{b}±0.311	17.76^{b} ±0.544	6.00±0.000	18.25^{b}±0.848	6.00±0.000	20.75±0.752	6.00±0.000
	6.00±0.000	18.19^{b}±0.311	17.02^{b} ±0.544	6.00±0.000	21.29^{b}±0.848	6.00±0.000	19.22±0.752	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.21^{b}±0.311	19.43^{b} ±0.544	6.00±0.000	23.22^{b}±0.848	6.00±0.000	13.63±0.752	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.82^{b}±0.311	19.98^{b} ±0.544	6.00±0.000	14.47^{b}±0.848	6.00±0.000	14.22±0.752	6.00±0.000
	6.00±0.000	17.79^{b}±0.311	18.19^{b} ±0.544	6.00±0.000	18.42^{b}±0.848	6.00±0.000	18.76±0.752	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.21^{b}±0.311	18.68^{b} ±0.544	6.00±0.000	11.23^{b}±0.848	6.00±0.000	17.84±0.752	6.00±0.000
	6.00±0.000	18.56^{b}±0.311	16.93^{b} ±0.544	6.00±0.000	16.47^{b}±0.848	6.00±0.000	15.18±0.752	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.29^{b}±0.311	14.92^{b} ±0.544	6.00±0.000	16.38^{b}±0.848	6.00±0.000	13.47±0.752	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.95^{b}±0.311	17.65^{b} ±0.544	6.00±0.000	13.21^{b}±0.848	6.00±0.000	10.33±0.752	6.00±0.000
	6.00±0.000	18.85^{b}±0.311	17.13^{b} ±0.544	6.00±0.000	11.42^{b}±0.848	6.00±0.000	16.43±0.752	6.00±0.000
	6.00±0.000	18.75^{b}±0.311	15.34^{b} ±0.544	6.00±0.000	15.23^{b}±0.848	6.00±0.000	14.88±0.752	6.00±0.000
	6.00±0.000	16.48^{b}±0.311	13.97^{b} ±0.544	6.00±0.000	18.23^{b}±0.848	6.00±0.000	15.26±0.752	6.00±0.000
	6.00±0.000	18.59^{b}±0.311	19.14^{b} ±0.544	6.00±0.000	16.41^{b}±0.848	6.00±0.000	13.58±0.752	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.12^{b}±0.311	20.72^{b} ±0.544	6.00±0.000	18.12^{b}±0.848	6.00±0.000	19.55±0.752	6.00±0.000

ตารางที่ ค-23 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 15

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
C. albicans	6.00±0.000	30.23[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.33[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.25[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.43[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.82[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.03[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.04[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.74[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.60[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.67[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.87[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	23.85[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.28[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.19[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.08[d] ±0.663	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-24 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 20

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
E. coli	6.00±0.000	33.70^{b}±0.515	20.90^{b}±0.946	6.00±0.000	14.11^{b}±0.490	6.00±0.000	19.13^{b}±1.380	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.46^{b}±0.515	21.25^{b}±0.946	6.00±0.000	13.75^{b}±0.490	6.00±0.000	21.94^{b}±1.380	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.35^{b}±0.515	23.16^{b}±0.946	6.00±0.000	15.04^{b}±0.490	6.00±0.000	23.04^{b}±1.380	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.74^{b}±0.515	21.32^{b}±0.946	6.00±0.000	15.54^{b}±0.490	6.00±0.000	22.84^{b}±1.380	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.77^{b}±0.515	24.74^{b}±0.946	6.00±0.000	13.60^{b}±0.490	6.00±0.000	18.14^{b}±1.380	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.05^{b}±0.515	26.69^{b}±0.946	6.00±0.000	12.28^{b}±0.490	6.00±0.000	29.98^{b}±1.380	6.00±0.000
	6.00±0.000	33.10^{b}±0.515	26.15^{b}±0.946	6.00±0.000	17.12^{b}±0.490	6.00±0.000	25.27^{b}±1.380	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.88^{b}±0.515	18.50^{b}±0.946	6.00±0.000	10.06^{b}±0.490	6.00±0.000	17.51^{b}±1.380	6.00±0.000
	6.00±0.000	33.65^{b}±0.515	11.84^{b}±0.946	6.00±0.000	14.57^{b}±0.490	6.00±0.000	26.54^{b}±1.380	6.00±0.000
	6.00±0.000	37.45^{b}±0.515	17.66^{b}±0.946	6.00±0.000	11.89^{b}±0.490	6.00±0.000	16.30^{b}±1.380	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.75^{b}±0.515	21.17^{b}±0.946	6.00±0.000	13.13^{b}±0.490	6.00±0.000	12.79^{b}±1.380	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.35^{b}±0.515	23.32^{b}±0.946	6.00±0.000	13.27^{b}±0.490	6.00±0.000	17.64^{b}±1.380	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.96^{b}±0.515	20.04^{b}±0.946	6.00±0.000	12.52^{b}±0.490	6.00±0.000	14.50^{b}±1.380	6.00±0.000
	6.00±0.000	28.50^{b}±0.515	23.24^{b}±0.946	6.00±0.000	10.79^{b}±0.490	6.00±0.000	12.84^{b}±1.380	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.39^{b}±0.515	21.24^{b}±0.946	6.00±0.000	15.69^{b}±0.490	6.00±0.000	12.91^{b}±1.380	6.00±0.000

ตารางที่ ค-25 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 20

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
P. aeruginosa	6.00±0.000	21.39^{a}±1.529	23.72^{b}±0.775	6.00±0.000	14.27^{b}±0.870	6.00±0.000	21.04^{b}±0.630	6.00±0.000
	6.00±0.000	22.95^{a}±1.529	22.09^{b}±0.775	6.00±0.000	21.94^{b}±0.870	6.00±0.000	21.72^{b}±0.630	6.00±0.000
	6.00±0.000	22.85^{a}±1.529	23.10^{b}±0.775	6.00±0.000	22.14^{b}±0.870	6.00±0.000	18.56^{b}±0.630	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.71^{a}±1.529	24.51^{b}±0.775	6.00±0.000	18.33^{b}±0.870	6.00±0.000	22.53^{b}±0.630	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.12^{a}±1.529	28.94^{b}±0.775	6.00±0.000	20.79^{b}±0.870	6.00±0.000	20.73^{b}±0.630	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.70^{a}±1.529	19.51^{b}±0.775	6.00±0.000	16.60^{b}±0.870	6.00±0.000	19.26^{b}±0.630	6.00±0.000
	6.00±0.000	29.74^{a}±1.529	20.79^{b}±0.775	6.00±0.000	11.32^{b}±0.870	6.00±0.000	25.38^{b}±0.630	6.00±0.000
	6.00±0.000	27.29^{a}±1.529	23.83^{b}±0.775	6.00±0.000	14.83^{b}±0.870	6.00±0.000	18.31^{b}±0.630	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.85^{a}±1.529	21.03^{b}±0.775	6.00±0.000	12.44^{b}±0.870	6.00±0.000	18.20^{b}±0.630	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.40^{a}±1.529	27.93^{b}±0.775	6.00±0.000	14.81^{b}±0.870	6.00±0.000	16.48^{b}±0.630	6.00±0.000
	6.00±0.000	14.93^{a}±1.529	19.51^{b}±0.775	6.00±0.000	14.20^{b}±0.870	6.00±0.000	23.61^{b}±0.630	6.00±0.000
	6.00±0.000	14.44^{a}±1.529	18.26^{b}±0.775	6.00±0.000	13.34^{b}±0.870	6.00±0.000	23.65^{b}±0.630	6.00±0.000
	6.00±0.000	16.83^{a}±1.529	23.28^{b}±0.775	6.00±0.000	14.89^{b}±0.870	6.00±0.000	19.04^{b}±0.630	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.10^{a}±1.529	20.72^{b}±0.775	6.00±0.000	16.45^{b}±0.870	6.00±0.000	20.46^{b}±0.630	6.00±0.000
	6.00±0.000	16.29^{a}±1.529	20.87^{b}±0.775	6.00±0.000	18.61^{b}±0.870	6.00±0.000	19.84^{b}±0.630	6.00±0.000

ตารางที่ ค-26 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 20

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
V. parahaemolyticus	6.00±0.000	22.19^{a}±0.470	37.63^{c}±1.474	6.00±0.000	22.23^{c}±1.677	6.00±0.000	31.02^{c}±2.568	6.00±0.000
	6.00±0.000	23.84^{a}±0.470	37.86^{c}±1.474	6.00±0.000	18.89^{c}±1.677	6.00±0.000	27.24^{c}±2.568	6.00±0.000
	6.00±0.000	23.13^{a}±0.470	29.82^{c}±1.474	6.00±0.000	27.28^{c}±1.677	6.00±0.000	30.29^{c}±2.568	6.00±0.000
	6.00±0.000	24.53^{a}±0.470	36.16^{c}±1.474	6.00±0.000	26.14^{c}±1.677	6.00±0.000	34.52^{c}±2.568	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.96^{a}±0.470	30.32^{c}±1.474	6.00±0.000	16.88^{c}±1.677	6.00±0.000	30.40^{c}±2.568	6.00±0.000
	6.00±0.000	26.92^{a}±0.470	33.76^{c}±1.474	6.00±0.000	31.59^{c}±1.677	6.00±0.000	34.07^{c}±2.568	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.70^{a}±0.470	34.64^{c}±1.474	6.00±0.000	35.62^{c}±1.677	6.00±0.000	43.52^{c}±2.568	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.88^{a}±0.470	29.15^{c}±1.474	6.00±0.000	30.00^{c}±1.677	6.00±0.000	39.76^{c}±2.568	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.16^{a}±0.470	27.76^{c}±1.474	6.00±0.000	25.95^{c}±1.677	6.00±0.000	23.12^{c}±2.568	6.00±0.000
	6.00±0.000	26.50^{a}±0.470	20.62^{c}±1.474	6.00±0.000	13.77^{c}±1.677	6.00±0.000	1.05^{c}±2.568	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.94^{a}±0.470	36.09^{c}±1.474	6.00±0.000	27.00^{c}±1.677	6.00±0.000	31.72^{c}±2.568	6.00±0.000
	6.00±0.000	24.75^{a}±0.470	26.18^{c}±1.474	6.00±0.000	19.43^{c}±1.677	6.00±0.000	31.86^{c}±2.568	6.00±0.000
	6.00±0.000	21.06^{a}±0.470	21.80^{c}±1.474	6.00±0.000	15.15^{c}±1.677	6.00±0.000	17.72^{c}±2.568	6.00±0.000
	6.00±0.000	25.79^{a}±0.470	36.74^{c}±1.474	6.00±0.000	25.30^{c}±1.677	6.00±0.000	34.85^{c}±2.568	6.00±0.000
	6.00±0.000	21.77^{a}±0.470	25.73^{c}±1.474	6.00±0.000	16.76^{c}±1.677	6.00±0.000	28.71^{c}±2.568	6.00±0.000

ตารางที่ ค-27 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 20

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
S. aureus	6.00±0.000	21.50^{a}±0.951	23.38^{b}±1.498	6.00±0.000	16.00^{b}±0.903	6.00±0.000	20.24^{b}±1.710	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.18^{a}±0.951	25.52^{b}±1.498	6.00±0.000	14.80^{b}±0.903	6.00±0.000	19.92^{b}±1.710	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.51^{a}±0.951	18.89^{b}±1.498	6.00±0.000	15.03^{b}±0.903	6.00±0.000	16.87^{b}±1.710	6.00±0.000
	6.00±0.000	23.35^{a}±0.951	29.90^{b}±1.498	6.00±0.000	19.58^{b}±0.903	6.00±0.000	28.49^{b}±1.710	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.05^{a}±0.951	26.01^{b}±1.498	6.00±0.000	19.16^{b}±0.903	6.00±0.000	25.11^{b}±1.710	6.00±0.000
	6.00±0.000	23.00^{a}±0.951	24.57^{b}±1.498	6.00±0.000	15.51^{b}±0.903	6.00±0.000	29.56^{b}±1.710	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.36^{a}±0.951	27.79^{b}±1.498	6.00±0.000	19.38^{b}±0.903	6.00±0.000	16.13^{b}±1.710	6.00±0.000
	6.00±0.000	24.91^{a}±0.951	26.25^{b}±1.498	6.00±0.000	13.26^{b}±0.903	6.00±0.000	28.42^{b}±1.710	6.00±0.000
	6.00±0.000	21.08^{a}±0.951	26.04^{b}±1.498	6.00±0.000	17.98^{b}±0.903	6.00±0.000	21.93^{b}±1.710	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.25^{a}±0.951	25.70^{b}±1.498	6.00±0.000	13.16^{b}±0.903	6.00±0.000	28.79^{b}±1.710	6.00±0.000
	6.00±0.000	19.61^{a}±0.951	28.67^{b}±1.498	6.00±0.000	12.61^{b}±0.903	6.00±0.000	12.62^{b}±1.710	6.00±0.000
	6.00±0.000	21.85^{a}±0.951	21.35^{b}±1.498	6.00±0.000	15.61^{b}±0.903	6.00±0.000	23.15^{b}±1.710	6.00±0.000
	6.00±0.000	20.89^{a}±0.951	19.22^{b}±1.498	6.00±0.000	14.62^{b}±0.903	6.00±0.000	22.11^{b}±1.710	6.00±0.000
	6.00±0.000	24.49^{a}±0.951	25.64^{b}±1.498	6.00±0.000	18.54^{b}±0.903	6.00±0.000	24.61^{b}±1.710	6.00±0.000
	6.00±0.000	34.11^{a}±0.951	6.00^{b}±1.498	6.00±0.000	6.00^{b}±0.903	6.00±0.000	6.00^{b}±1.710	6.00±0.000

ตารางที่ ค-28 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ที่พบในชาทั้ง 3 ชนิด ในวันหมักที่ 20

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (มิลลิเมตร)							
	Control	ยาปฏิชีวนะ	ชาดำ		ชาเขียว		ชาขิง	
			ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก	ชาที่ผ่านการหมัก	ชาที่ไม่ผ่านการหมัก
	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ	15 ซ้ำ
C. albicans	6.00±0.000	36.69^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	36.12^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	33.30^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	36.46^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	32.06^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	34.12^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	30.90^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	39.55^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	35.00^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	34.85^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	36.85^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	33.33^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	35.57^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	31.33^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000
	6.00±0.000	36.69^{c}±0.642	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000	6.00±0.000

ตารางที่ ค-29 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาดำก่อนปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 5 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
5	4	4	5	5	5	5
5	6	4	6	7	7	7
7	7	4	6	7	6	5
5	7	5	3	5	1	2
6	8	6	7	7	8	8
5	6	8	8	8	8	8
6	5	5	6	7	6	7
6	6	3	4	7	6	7
8	7	9	8	7	9	9
5	5	9	9	5	5	7
7	7	8	8	9	9	9
8	8	4	6	7	4	7
8	8	7	8	5	5	7
8	7	6	7	3	7	8
8	7	7	5	5	5	5
8	7	8	8	7	6	7
6	5	5	6	6	5	4
4	4	6	5	6	7	7
9	8	7	4	8	7	7
7	6	5	7	6	6	6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-30 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาดำก่อนปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 10 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
4	4	3	3	3	3	3
5	5	4	4	4	3	4
7	7	4	2	1	2	2
6	6	4	2	1	1	1
6	8	5	4	5	4	6
5	6	3	2	1	1	2
6	5	3	2	2	2	2
7	8	4	3	3	5	4
8	7	5	8	7	8	8
5	5	3	1	1	1	4
7	7	7	7	6	8	8
8	8	5	3	5	3	6
8	8	9	9	5	6	6
8	7	8	8	1	4	5
8	6	5	6	6	7	7
7	8	4	4	4	4	4
6	5	2	3	4	3	2
6	7	4	4	5	6	6
9	8	8	6	7	8	8
7	6	5	6	5	6	6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-31 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาดำก่อนปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 15 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
4	4	1	1	1	1	1
5	6	4	3	3	3	3
6	6	4	4	4	3	4
1	7	3	1	1	1	1
6	8	4	4	5	4	6
6	7	1	1	1	1	1
6	5	2	1	1	1	1
6	6	2	2	1	1	2
8	7	7	7	3	2	4
5	5	2	1	1	1	3
8	7	6	4	2	4	4
8	8	5	2	5	2	4
8	8	9	9	3	2	5
8	7	9	9	1	3	4
8	7	6	4	5	4	4
8	6	5	2	2	3	3
7	5	2	3	4	3	2
4	4	3	2	4	4	4
9	8	6	5	7	7	6
7	6	1	1	1	1	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-32 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาดำก่อนปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 20 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
4	4	1	1	1	1	1
5	6	2	2	2	2	2
6	6	2	2	1	1	1
2	1	3	1	1	1	1
6	8	3	3	3	3	4
5	6	1	1	1	1	1
6	5	2	1	1	1	1
7	7	2	1	1	1	1
8	7	1	1	1	2	4
5	5	1	7	7	6	4
9	8	3	2	1	2	4
8	8	9	9	1	4	3
8	7	9	9	1	9	3
8	7	5	3	4	4	4
8	6	5	2	2	3	3
6	5	2	2	3	3	1
5	6	2	2	3	4	4
9	8	4	3	3	4	4
7	6	1	1	1	1	1
6	8	3	3	2	3	4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-33 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาเขียวก่อนปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 5 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
6	6	3	5	3	3	7
6	6	4	5	5	5	5
7	8	4	3	6	5	5
9	9	3	4	6	6	6
7	7	8	7	8	8	8
4	5	1	3	2	1	2
5	6	6	4	6	5	6
7	9	9	6	7	7	8
8	8	6	7	6	7	7
9	9	1	9	9	5	5
7	6	5	7	7	5	5
7	7	3	7	7	7	7
8	8	9	9	9	9	8
8	8	2	9	2	5	5
4	5	2	3	4	6	5
6	6	5	7	6	7	6
9	6	6	5	6	6	6
8	7	9	9	1	6	7
4	5	5	7	7	6	6
7	6	5	6	5	6	6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-34 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาเขียวก่อนปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 10 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
5	5	5	6	1	2	4
6	6	3	2	2	4	4
7	7	3	2	2	2	2
9	9	3	2	6	4	4
7	7	4	5	6	5	4
6	6	2	2	2	1	3
5	5	7	2	2	1	3
6	9	7	6	4	6	7
9	6	8	8	7	7	6
9	9	4	4	4	1	3
7	6	5	3	3	3	4
7	7	2	4	7	4	1
7	7	4	5	7	5	6
8	8	4	8	3	5	6
6	6	1	1	3	3	3
6	6	4	4	3	2	2
9	8	3	1	2	2	4
9	8	7	8	2	7	8
6	5	3	3	4	3	3
5	5	2	2	2	2	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-35 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาเขียวก่อนปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 15 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
4	5	7	7	1	1	4
6	6	1	1	1	1	3
5	7	4	3	4	3	3
9	9	3	2	4	3	3
7	7	3	4	4	4	3
6	6	1	1	1	1	2
6	6	5	2	1	1	2
9	9	7	6	3	4	6
8	7	5	4	5	6	6
5	5	3	3	1	1	2
7	6	4	2	3	2	2
7	7	1	2	1	1	1
7	6	2	3	2	3	4
8	7	6	8	3	4	5
8	7	7	3	3	4	4
6	6	2	3	2	2	1
9	6	3	1	1	1	2
5	5	3	4	4	3	2
5	5	1	3	3	2	1
7	7	9	9	1	6	7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-36 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาเขียวก่อนปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 20 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
3	5	8	8	1	1	4
6	6	1	1	1	1	2
7	7	5	1	2	1	2
9	9	3	1	3	3	3
7	7	1	1	1	1	1
5	5	5	2	1	1	2
9	9	7	7	2	5	8
7	7	6	4	4	4	4
3	5	1	1	1	1	1
7	6	3	1	1	1	1
7	6	1	1	2	3	3
8	7	6	9	1	6	6
5	5	3	4	5	3	4
5	6	1	1	1	1	1
9	6	3	1	1	1	1
8	8	9	9	1	4	5
5	5	2	3	2	2	2
4	4	1	1	1	1	1
5	5	5	2	1	1	2
7	8	9	8	1	4	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-37 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาขิงก่อนปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 5 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
7	7	5	5	7	7	7
7	7	8	6	5	7	6
6	7	7	5	9	8	7
6	6	5	5	6	5	5
9	9	7	7	8	8	8
8	8	8	6	7	6	7
8	7	7	7	8	9	8
8	8	8	9	9	9	9
8	7	4	8	7	8	7
7	7	6	7	7	6	7
8	7	6	5	5	5	5
9	9	9	8	8	9	9
6	6	7	6	6	7	6
8	8	7	5	7	8	8
6	9	4	9	3	4	6
7	8	4	6	7	7	7
7	7	5	6	6	5	6
4	5	6	3	2	2	3
6	9	9	9	9	9	9
5	5	4	5	4	3	5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-38 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาขิงก่อนปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 10 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
7	7	6	6	7	7	7
5	5	4	4	4	4	4
6	5	7	5	8	4	5
6	6	4	4	6	5	5
9	9	6	6	7	7	7
8	9	9	7	8	8	8
8	8	7	4	5	6	7
6	6	8	8	8	8	8
8	7	2	7	5	5	6
6	6	6	5	5	5	5
8	7	7	7	7	7	7
9	9	9	6	5	7	8
6	6	4	4	5	6	5
9	9	5	3	5	2	7
9	7	5	7	5	6	7
8	8	6	7	7	8	7
7	7	5	7	7	6	7
5	6	3	3	2	2	4
9	9	5	7	8	8	7
5	5	4	5	4	4	5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-39 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาขิงก่อนปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 15 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
7	7	5	5	5	5	6
4	5	5	3	3	3	3
4	5	9	9	2	3	1
6	6	3	3	4	4	4
9	9	6	6	6	5	5
8	8	7	5	6	6	6
8	7	6	5	5	6	7
7	7	7	7	7	7	7
8	7	1	3	4	4	4
5	4	2	3	3	3	4
8	7	7	7	8	8	8
9	9	9	4	5	6	8
4	5	3	3	4	5	5
8	9	5	3	4	2	7
8	8	6	7	6	7	8
8	7	8	5	7	6	6
7	7	3	6	6	3	5
3	5	2	1	1	1	1
9	9	5	6	4	5	5
5	6	4	6	4	5	6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-40 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาขิงก่อนปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 20 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
7	7	5	3	3	3	3
2	2	2	2	2	2	2
3	3	9	9	2	3	1
6	6	1	1	3	2	1
9	5	6	6	5	3	4
8	8	6	4	5	5	5
8	8	6	4	4	5	6
9	9	6	6	6	6	6
8	7	2	1	2	4	3
5	5	3	2	2	2	3
8	7	6	5	5	5	5
9	9	9	4	4	4	7
4	4	6	3	3	4	5
8	8	4	1	5	1	6
7	6	6	9	3	4	7
8	7	9	4	4	4	5
7	7	1	4	3	1	4
5	5	1	1	1	1	1
5	5	4	4	8	3	3
5	6	3	4	4	4	5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-41 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาหมักที่ขายในท้องตลาด

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
5	6	5	9	6	3	7
5	4	8	6	4	7	7
7	8	5	4	4	5	4
6	5	7	7	6	6	7
5	6	7	9	9	9	9
7	7	6	8	8	9	9
5	6	7	5	5	8	7
5	7	9	6	6	6	6
7	6	5	8	6	7	7
6	6	7	7	3	4	5
4	7	4	7	5	8	8
2	1	5	5	5	5	7
3	3	4	1	1	1	1
8	7	7	1	1	1	1
7	7	7	7	6	7	7
5	4	5	7	7	7	7
4	7	6	7	5	6	6
5	5	8	8	5	5	7
3	4	4	5	2	4	4
6	7	7	6	4	4	6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-42 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาดำหลังปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 10 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
7	5	5	7	5	7	7
8	9	4	6	6	6	7
8	8	5	5	5	5	5
5	5	6	7	6	7	7
6	6	3	7	6	8	7
9	9	5	2	4	4	5
7	7	5	7	4	5	8
5	8	4	6	5	6	6
8	8	3	8	7	7	7
5	9	5	3	4	4	4
7	7	4	4	5	4	7
9	8	6	3	3	4	4
7	6	6	7	6	7	7
5	4	4	7	7	7	7
7	7	4	5	4	4	4
6	6	4	6	5	5	5
7	7	7	3	4	3	4
9	9	5	3	5	3	5
6	7	5	6	6	6	6
8	8	6	4	6	8	5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-43 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาดำหลังปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 15 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
7	5	5	6	8	8	8
8	6	3	7	7	7	8
9	8	5	4	5	5	6
4	7	7	4	7	6	7
7	6	6	4	3	3	4
8	8	3	7	7	8	7
6	7	6	9	9	9	9
8	7	7	6	5	7	7
8	8	8	7	7	9	7
5	8	5	7	7	6	8
6	7	4	6	4	4	4
9	8	3	4	5	5	5
5	6	4	5	7	7	8
4	4	5	8	8	8	7
6	6	5	7	7	8	8
8	7	8	7	7	6	6
6	8	7	7	7	7	7
9	9	8	8	8	8	8
5	7	7	4	8	6	6
8	7	7	6	7	8	8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-44 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาเขียวหลังปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 10 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
7	5	4	6	7	8	8
8	6	7	7	6	7	7
8	8	5	4	5	5	5
4	6	8	6	8	7	8
7	5	1	7	7	7	8
9	9	6	4	7	5	5
5	6	5	3	3	3	7
7	5	5	5	4	5	5
8	7	7	7	7	6	6
5	7	4	7	6	7	7
5	7	6	6	7	5	6
8	8	6	4	4	5	5
5	4	6	6	7	6	7
5	5	6	8	8	8	8
7	7	4	5	5	5	5
8	8	8	3	4	4	4
6	7	6	7	7	7	8
9	9	7	8	8	8	6
4	5	4	4	7	5	5
8	8	7	6	7	8	8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-45 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาเขียวหลังปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 15 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
7	5	3	8	6	6	6
9	8	6	4	3	4	4
9	8	5	3	2	4	3
6	8	7	7	7	8	8
8	6	2	9	9	9	9
9	9	4	3	5	6	6
6	7	7	7	2	4	7
8	9	4	7	6	7	8
8	8	4	6	4	5	6
5	9	5	4	5	5	5
9	7	7	4	8	4	5
9	8	2	3	3	4	4
6	7	7	3	4	3	3
7	7	4	5	3	3	6
9	9	5	3	3	3	3
6	7	7	4	4	4	5
7	7	7	3	4	3	3
9	9	5	5	5	5	5
8	7	7	7	7	8	7
8	8	7	4	5	6	5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-46 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาขิงหลังปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 10 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
8	6	3	6	7	8	8
8	5	6	4	4	3	3
9	7	5	2	4	4	5
9	7	6	4	4	5	4
7	7	8	9	8	8	9
9	9	4	8	8	9	9
7	7	7	6	3	4	7
7	7	8	6	6	6	6
7	8	7	9	8	8	9
6	9	2	6	5	5	5
8	8	4	2	5	2	3
7	8	3	5	7	6	6
7	7	5	2	1	1	2
8	6	8	4	3	4	4
8	8	7	6	6	6	6
6	7	7	5	7	5	5
7	6	5	6	1	6	7
8	9	6	6	6	5	7
5	5	5	6	5	5	5
8	8	7	6	5	5	7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-47 การทดสอบประสาทสัมผัสของชาขิงหลังปรับปรุงรสชาติ ระยะเวลาในการหมัก 15 วัน

ระดับความพึงพอใจ						
ความใส	สี	กลิ่นน้ำส้มสายชู	ความเปรี้ยว	ความหวาน	ความกลมกล่อม	ความชอบโดยรวม
7	5	5	7	6	6	7
7	5	3	4	3	3	3
8	7	5	3	3	4	4
4	5	4	7	7	7	6
7	5	2	4	2	4	4
9	9	4	3	5	6	6
7	6	7	6	3	5	7
5	5	8	7	7	7	7
7	7	4	8	8	6	7
5	8	5	4	4	4	4
7	7	5	6	5	5	4
7	4	2	4	8	5	5
8	8	7	1	1	1	2
6	6	7	5	6	6	6
7	6	5	7	7	7	7
6	7	7	5	6	4	4
6	7	7	6	5	6	7
9	9	6	7	7	7	6
5	6	6	7	7	6	6
8	8	7	4	4	5	5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

แบบประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบประเมินความพึงพอใจชา Kombucha tea
คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำชี้แจง : แบบประเมินนี้เป็นการเก็บข้อมูลความคิดเห็นและความพึงพอใจของนักศึกษาและอาจารย์ที่มีต่อชา Kombucha tea ทั้งนี้เพื่อนำความคิดเห็นและความพึงพอใจที่ได้ไปสรุปเพื่อปรับปรุงรสชาติของชาคอมบูชาให้มีความเหมาะสมและเป็นที่นิยมในกลุ่มผู้บริโภค

ตอนที่ 1 : ระดับความพึงพอใจ : โปรดใส่คะแนนความพึงพอใจ โดยให้ คะแนน 1-9 โดย

9 = ชอบมากที่สุด (like extremely)
8 = ชอบมาก (like very much)
7 = ชอบปานกลาง (like moderately)
6 = ชอบเล็กน้อย (like slightly)
5 = เฉย ๆ (neither like nor dislike)
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย (dislike slightly)
3= ไม่ชอบปานกลาง (dislike moderately)
2 = ไม่ชอบมาก (dislike very much)
1 = ไม่ชอบมากที่สุด (dislike extremely)

คุณภาพ	คะแนนเต็ม	รหัสตัวอย่าง						
		1	2	3	4	5	6	7
ความใส	9							
สี	9							
กลิ่นน้ำส้มสายชู	9							
ความเปรี้ยว	9							
ความหวาน	9							
ความกลมกล่อม	9							
ความชอบโดยรวม	9							

ข้อเสนอแนะอื่นๆ

.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้