

สมบัติเชิงหน้าที่ของคอมบูชาที่ผลิตจากสมุนไพร 4 ชนิด (*Ventilago denticulata* Willd, *Salacia chinensis* L., *Diospyros variegata* Kurz. และ *Ventilago calyculata* Tul.)**Functional Properties of Herbal Kombucha Fermented from 4 Medicinal Plants (*Ventilago denticulata* Willd, *Salacia chinensis* L., *Diospyros variegata* Kurz. and *Ventilago calyculata* Tul.)**

เปมิกา ขำวีระ^{1,*}, สุชาดา ไม้สนธิ², รัตมี แสงศิริมงคลยิ่ง¹, วรวดี สุขัยยะ¹, เจริญพร โชคบริบาล¹ และ สุธาทิพย์ ทองเล่ม¹
Pemika Khamweera^{1,*}, Suchada Maisont², Ratsamee Sangsirimongkolying¹, Voravadee Suchaiya¹, Jaroenporn Chokboribal¹, and Sutatip Thonglem¹

Received: November 7, 2025

Revised: April 27, 2026

Accepted: April 29, 2026

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ประโยชน์จากสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ รวงแดง (*Ventilago denticulata* Willd) กำแพงเจ็ดชั้น (*Salacia chinensis* L.) พญารากดำ (*Diospyros variegata* Kurz.) และเถาว์ลิ้นเหล็ก (*Ventilago calyculata* Tul.) โดยการศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของคอมบูชาสมุนไพร พบว่าคอมบูชาสมุนไพรที่ผลิตจากน้ำชาสมุนไพรเข้มข้นร้อยละ 37 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ทั้ง 4 ชนิด สามารถนำมาผลิตคอมบูชาที่มีสมบัติเชิงหน้าที่ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดจากคอมบูชารวงแดง (615.54 ± 0.021 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดจากคอมบูชาเถาว์ลิ้นเหล็ก (2.01 ± 0.059 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาณกรดแอซิกในคอมบูชาสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดอยู่ในช่วง 0.451 ± 0.0005 ถึง 0.625 ± 0.0036 มิลลิกรัม ส่วนปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ พบว่าคอมบูชาพญารากดำมีค่าสูงที่สุด (1.149 ± 0.039 มิลลิกรัม/กรัม) และคอมบูชากำแพงเจ็ดชั้นมีค่าต่ำที่สุด (0.077 ± 0.004 มิลลิกรัม/กรัม) ปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมดที่มีค่าสูงสุดในวันที่ 7 คือร้อยละ 2.95 (% ABV) ในการหมักวันที่ 7 ปริมาณของแข็ง สารอินทรีย์ และอินทรีย์ทั้งหมดที่ละลายน้ำ อยู่ในช่วง 170.00-212.50 กรัม/ลิตร ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณแบคทีเรียแอซิดิก ปริมาณยีสต์ เป็นไปตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์อาหาร ($6 \log \text{CFU/มิลลิลิตร}$) ไม่พบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลธรรมชาติ เช่น กลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส ในหน่วย กรัม/100 มิลลิลิตร ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้สำหรับเครื่องดื่มหมักเพื่อสุขภาพ

คำสำคัญ คอมบูชาสมุนไพร สมบัติเชิงหน้าที่ อนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์

ABSTRACT

This research aimed to utilize four local herbs: Rang Daeng (*Ventilago denticulata* Willd), Kamphaeng Chet Chan (*Salacia chinensis* L.), Phaya Rak Dam (*Diospyros variegata* Kurz.), and Thao Wan Lek (*Ventilago calyculata* Tul.), to study the functional properties of their herbal kombucha brews. The study found that all four herbal kombucha variants, produced from a 37% (w/v) herbal tea concentrate, successfully exhibited functional properties. Specifically, the highest antioxidant activity was observed in the Rang Daeng kombucha ($615.54 \pm 0.021 \mu\text{g/mL}$), while the highest total phenolic content was found in the Thao Wan Lek kombucha ($2.01 \pm 0.059 \mu\text{g/mL}$). The acetic acid content across all four herbal kombucha types ranged from 0.451 ± 0.0005 to $0.625 \pm 0.0036 \text{ mg}$. Regarding flavonoid content, the Phaya Rak Dam kombucha exhibited the highest value ($1.149 \pm 0.039 \text{ mg/g}$), and the Kamphaeng Chet Chan kombucha had the lowest value ($0.077 \pm 0.004 \text{ mg/g}$). On the 7th day of fermentation, the maximum total alcohol content reached 2.95% ABV. Furthermore, during the day 7 fermentation period, the total dissolved solids, including inorganic and organic substances, ranged from 170.00 to 212.50 g/L. The total microbial count, acetic acid bacteria count, and yeast count met the standards for food products ($6 \log \text{CFU/mL}$). Finally, no reducing sugars or natural sugars such as glucose, fructose, and sucrose were detected in g/100 mL, which falls within the acceptable criteria for healthy fermented beverages.

Keywords: Herbal Kombucha, Functional properties, Antioxidant, Phenolic, Flavonoid

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ชีวภาพกับการประกอบธุรกิจ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

²สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหารและความเป็นผู้ประกอบการสมัยใหม่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

บทนำ

คอมบูชา (kombucha) เป็นเครื่องดื่มฟังก์ชันนัล (functional drink) ที่เกิดจากกระบวนการหมักน้ำชาด้วยกลุ่มจุลินทรีย์ร่วมระหว่างยีสต์ แบคทีเรียแลคติก (Lactic Acid Bacteria: LAB) และแบคทีเรียกรดแอซิติก (Acetic Acid Bacteria: AAB) หรือที่เรียกว่า SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) [1] จุลินทรีย์กลุ่มนี้จะสร้างโครงสร้างเส้นใยนาโนเซลลูโลส (cellulose nanofibers) ขึ้นในระหว่างการหมัก โดยมีกลไกทางชีวเคมีที่สำคัญ คือ ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล และแบคทีเรียกรดแอซิติก เปลี่ยนเอทานอลให้เป็นกรดอินทรีย์หลายชนิด เช่น กรดแอซิติก (acetic acid) กรดกลูคูโรนิก (glucuronic acid) และกรดกลูโคนิก (gluconic acid) รวมถึงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ อาทิ วิตามินบีรวม วิตามินซี และสารต้านอนุมูลอิสระ [2-4] ส่งผลให้คอมบูชามีสมบัติเด่นในการปรับสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้ (gut microbial balance) และยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค [5] ส่วนของคอมบูชา มีสารประกอบหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย อาทิเช่น กรดแอซิติก กรดกลูคูโรนิก กรดกลูโคนิก กรดซัคซินิก กรดซิตริก กรดอะมิโน วิตามินซี วิตามินบี1 วิตามินบี12 กลูโคส และ D-saccharide acid-1,4- lactone (DSL) [6-7] ปัจจุบันเทคโนโลยีการผลิตคอมบูชามุ่งเน้นการใช้วัตถุดิบทางเลือกเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและสารสำคัญเชิงหน้าที่ (functional ingredients) โดยมีการนำส่วนต่างๆ ของสมุนไพรมาใช้หรือผสมกับชาดั้งเดิม เพื่อเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [4] รวมถึงการเพิ่มศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (NCDs) เช่น โรคเบาหวาน [8-9] แนวคิดในการพัฒนาคอมบูชาสมุนไพรเริ่มได้รับความสนใจ เนื่องจากการนำสมุนไพรพื้นบ้านที่มีฤทธิ์ทางยาเข้ามาผสมผสานกับกระบวนการหมักของคอมบูชา ซึ่งไม่เพียงช่วยเพิ่มคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และต้านจุลินทรีย์ก่อโรค แต่ยังสามารถส่งเสริมรสชาติและกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีความน่าสนใจและตอบสนองต่อความต้องการของผู้บริโภคในยุคที่ใส่ใจสุขภาพมากยิ่งขึ้น อาจส่งผลให้

เครื่องดื่มมีคุณสมบัติที่เหนือกว่าการผลิตแบบดั้งเดิมและสามารถนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพที่มีคุณภาพในตลาด [10] จากการศึกษาการผลิตคอมบูชาจากสมุนไพรท้องถิ่นในอินเดีย พบว่าสามารถเพิ่มคุณสมบัติทางชีวภาพของเครื่องดื่มได้ [9] ดังนั้นการพัฒนาคอมบูชาจากสมุนไพร จึงเป็นแนวทางที่มีศักยภาพในการตอบสนองตลาดอาหารฟังก์ชัน (Functional Foods) ที่เน้นการส่งเสริมสุขภาพในระยะยาว เช่น การบำรุงระบบภูมิคุ้มกัน การปรับปรุงระบบย่อยอาหาร และการป้องกันโรคเรื้อรัง [11,12] จึงเป็นโอกาสที่น่าสนใจสำหรับการวิจัยและพัฒนาต่อไป

งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการยกระดับทรัพยากรท้องถิ่นภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) โดยนำสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ รวงแดง (*Ventilago denticulata* Willd.) กำแพงเจ็ดชั้น (*Salacia chinensis* L.) พญารากดำ (*Diospyros variegata* Kurz.) และเถาวัลย์เหล็ก (*Ventilago calyculata* Tul.) มาเป็นวัตถุดิบหลักในกระบวนการหมักคอมบูชา เพื่อศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของสารสำคัญทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ชนิดของกรดอินทรีย์ และสารประกอบฟีนอลิก รวมถึงปริมาณของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ เพื่อสร้างองค์ความรู้ในการพัฒนาเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่มีเอกลักษณ์จากสมุนไพรท้องถิ่น และเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับชุมชนอย่างยั่งยืน ผู้วิจัยในฐานะผู้ทำงานสนองพระราชดำริจึงเล็งเห็นถึงประโยชน์ของชาจากสมุนไพรที่เป็นได้มากกว่าชาธรรมดา หากนำเทคโนโลยีการหมักด้วยหัวเชื้อ SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) ซึ่งกำลังเป็นกระแสนิยมของเครื่องดื่มโปรไบโอติกส์อยู่ในขณะนี้ มาเพิ่มความหลากหลายให้กับผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในท้องถิ่นตลอดจนสร้างอาชีพให้แก่คนในพื้นที่

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างสมุนไพร

เก็บตัวอย่างสมุนไพรพื้นถิ่น ส่วนของลำต้นจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ รวงแดง กำแพงเจ็ดชั้น พญารากดำ

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹Program in Biological Product Technology and Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University

²Food Technology and Modern Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University

และเลววัลย์เหล็ก ซึ่งเป็นพืชที่ได้ศึกษาต่อยอดมาจากงานวิจัยของ Sangsirimongkolying et al. [13] โดยการตัดเป็นท่อน ความหนา ประมาณ 1 เซนติเมตร ยาวประมาณ 5 เซนติเมตร (Figure 1) แช่สมุนไพรในน้ำสะอาดเป็นเวลา 30-60 นาที บรรจุใส่ถุง นำมาเชื่อมด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ยี่ห้อ ZEALWAY รุ่น GR60SR อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที อบด้วยตู้อบควบคุมอุณหภูมิ (oven) ยี่ห้อ BINDER รุ่น FD อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ เก็บในโถดูดความชื้น รอการเตรียมน้ำชา

2. การเตรียมน้ำชา SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast)

น้ำชา SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) ธรรมชาติ เตรียมจากการนำเนื้อสับปะรดปริมาณ 5 กิโลกรัม ใส่ลงในขวดโหลปลอดเชื้อ เติมน้ำ RO (Reverse Osmosis) ที่ละลายน้ำตาลซูโครส ร้อยละ 20 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ดัง Figure 2 เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ปนเปื้อน และคลอรีนที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อตามธรรมชาติ จากนั้นเติมน้ำส้มสายชูหมักทางการค้าแบบไม่กรอง (The Mother of Vinegar) ยี่ห้อ BRAGG ร้อยละ 20 (ปริมาตร/ปริมาตร) ปรับค่า pH ด้วยกรดแอสติคเข้มข้นร้อยละ 5 (ปริมาตร/ปริมาตร) ให้มีค่า pH เท่ากับ 4.5 ปิดฝาขวดด้วยผ้าขาวบางเพื่อให้อากาศผ่านได้ บ่มไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 25–30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน เก็บในถุงพลาสติกปิดสนิท แช่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. การศึกษาความเข้มข้นของชาสมุนไพร

เตรียมน้ำชาสมุนไพร 4 ชนิด ความเข้มข้นร้อยละ 10 15 20 25 30 35 และ 37.5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ตามลำดับ ด้วยน้ำ RO (Reverse Osmosis) นำไปต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 บรรจุใส่ขวดโหล รองนอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส นำไปศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2 diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) และ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

4. การเตรียมผลิตภัณฑ์คอมบูชาสมุนไพรจากสมุนไพร 4 ชนิดด้วยวิธีธรรมชาติ

เตรียมน้ำชาสมุนไพร 4 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 37.5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ตามสูตรของปราชญ์ท้องถิ่นของตำบลหนองยายโตะ อำเภอชัยบาดาล จังหวัดลพบุรี วิธีการเดียวกับข้อ 3 แล้วจึงเติมน้ำชาที่เตรียมจากข้อ 2 ร้อยละ 20 (ปริมาตร/ปริมาตร) ปิดฝาขวดด้วยผ้าขาวบางเพื่อให้อากาศผ่านได้ รััดด้วยยางเพื่อป้องกันแมลงแต่ให้ออกซิเจนผ่านเข้าได้ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน โดยเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ทางชีวภาพและทางเคมีด้วยเทคนิคปลอดเชื้อทุกวันเป็นเวลา 7 วัน

5. วิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์คอมบูชาสมุนไพร

5.1 วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

เจือจางตัวอย่างด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.85 (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ยี่ห้อ Loba Chemie™) ในอัตราส่วน 1:10 ทำซ้ำจนได้ระดับการเจือจางที่ 10^{-5} เลี้ยงเชื้อบนอาหาร PCA (Plate Count Agar) ยี่ห้อ Difco, BBL™ ด้วยเทคนิคการป้ายเชื้อ (Spread plate technique) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง คำนวณปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในหน่วย CFU/มิลลิลิตร [14]

5.2 วิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียแอซิดิกทั้งหมด

เจือจางตัวอย่างด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.85 (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ยี่ห้อ Loba Chemie™) ในอัตราส่วน 1:10 ทำซ้ำจนได้ระดับการเจือจางที่ 10^{-5} เลี้ยงเชื้อบนอาหาร de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar ยี่ห้อ Difco, BBL™ ที่เติมเอทานอล ร้อยละ 2 (ยี่ห้อ Loba Chemie™) และปรับค่า pH ด้วยกรดแอสติคเข้มข้นร้อยละ 5 (ปริมาตร/ปริมาตร) ให้มีค่า pH เท่ากับ 5.5 ด้วยเทคนิคการป้ายเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง คำนวณปริมาณแบคทีเรียแอซิดิกทั้งหมด CFU/มิลลิลิตร [15]

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์สุขภาพกับการประกอบธุรกิจ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

²สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหารและความเป็นผู้ประกอบการสมัยใหม่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

5.3 วิเคราะห์ปริมาณยีสต์ทั้งหมด

เจือจางตัวอย่างด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.85 (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ยี่ห้อ Loba Chemie™) ในอัตราส่วน 1:10 ทำซ้ำจนได้ระดับการเจือจางที่ 10^{-5} เลี้ยงเชื้อบนอาหาร Yeast Malt Agar (YMA) ยี่ห้อ Difco, BBL™ ด้วยเทคนิคการป้ายเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง คำนวณปริมาณยีสต์ทั้งหมด CFU/มิลลิลิตร [14]

6. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

6.1 วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

การวิเคราะห์ค่า pH ในคอมบูชาสมุนไพรด้วยเครื่องวัดค่า pH ยี่ห้อ DKSH รุ่น Lab 855 set ที่ผ่านการปรับเทียบ (calibration) ได้แก่สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน เช่น pH 4.0 และ 7.0 [2]

6.2 วิเคราะห์ปริมาณกรดแอสติค

วิเคราะห์ตัวอย่างคอมบูชาที่หมักนาน 7 วัน ด้วยเทคนิค High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) ยี่ห้อ HITACHI Primaide ด้วยคอลัมน์ Pursuit 5 μm C18, 250 x 4.6 มิลลิเมตร วิเคราะห์ปริมาณสารเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสติค โดยนำพื้นที่ใต้กราฟที่ตรงกับสารมาตรฐาน คำนวณหาปริมาณสารในตัวอย่าง

6.3 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารตัวอย่าง คอมบูชาที่หมักนาน 7 วัน ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric method โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเคออสติน จากนั้นคำนวณปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคออสตินต่อน้ำหนักสารสกัด 1 กรัม [16]

6.4 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

วิเคราะห์ด้วยเทคนิค High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) ยี่ห้อ HITACHI Primaide [16] โดยเตรียมตัวอย่างคอมบูชาที่หมักนาน

7 วัน ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกเซลล์ยีสต์และแบคทีเรีย ใช้สารละลายมาตรฐานกลูโคส สำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน คำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในหน่วยกรัมต่อลิตร

6.5 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลธรรมชาติ

วิเคราะห์ด้วยเทคนิค High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) ยี่ห้อ HITACHI Primaide [16] โดยเตรียมตัวอย่างคอมบูชาที่หมักนาน 7 วัน ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ปรับ pH เป็นกลาง (pH 7) ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล ใช้สารละลายมาตรฐานน้ำตาลธรรมชาติ กลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส คำนวณความเข้มข้นน้ำตาลธรรมชาติ ในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

6.6 วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมด

วิเคราะห์ด้วยวิธีการวัดค่าดัชนีหักเห ด้วยเครื่อง Alcohol Refractometer (ยี่ห้อ JEDTO รุ่น RHW-25 ATC) อ่านค่า % Alcohol by Volume (ABV)

6.7 วิเคราะห์ปริมาณของแข็ง สารอินทรีย์ และอินทรีย์ทั้งหมดที่ละลายอยู่ในน้ำ

วิเคราะห์ค่าดัชนีหักเห ด้วยเครื่อง Brix Refractometer (ยี่ห้อ JEDTO รุ่น RHW-22Be ATC) และคำนวณค่าร้อยละบริกซ์ [17]

7. วิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์คอมบูชาสมุนไพร

7.1 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH)

เติมสารละลาย DPPH ลงในตัวอย่างคอมบูชาสมุนไพร บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ยี่ห้อ Perkin Elmer Victor Nivo คำนวณเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระ (% DPPH scavenging) และวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งหรือกำจัดอนุมูล

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹Program in Biological Product Technology and Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University

²Food Technology and Modern Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University

อิสระได้ 50% ของอนุมูลอิสระทั้งหมดในระบบ (EC50: Effective Concentration 50%) โดยนำค่า % DPPH scavenging ที่ความเข้มข้นต่างๆ มาสร้างกราฟ คำนวณค่า EC50 เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแอสคอบิก [18]

7.2 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐาน Folin-Ciocalteu Assay

เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) และสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ลงในตัวอย่างคอมบูชา บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ยี่ห้อ Perkin Elmer Victor Nivo เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก และคำนวณปริมาณฟีนอลิกเป็นมิลลิกรัมกรดแกลลิก เทียบเท่าต่อหน่วยตัวอย่าง (มิลลิกรัม GAE/กรัม)

8. ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธี 9-hedonic scale

ประเมินระดับความพึงพอใจด้านคุณลักษณะประกอบด้วย ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์คอมบูชาสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ซึ่งเป็นคอมบูชาอุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ด้วยผู้ทดสอบกลุ่มที่ไม่ได้ผ่านการฝึก จำนวน 30 คน โดยโครงการวิจัยได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ เลขที่ 02.001/67 ระดับความพึงพอใจตั้งแต่ไม่ชอบมากที่สุด (ระดับ 1) ถึงชอบมากที่สุด (ระดับ 9) วิเคราะห์ทางสถิติค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้ Duncan's multiple range test โปรแกรมวิเคราะห์สถิติ SPSS [19]

ผลการทดลอง และวิจารณ์

การเก็บตัวอย่างสมุนไพร เลือกเก็บส่วนของลำต้นของ รากแดง กำแพงเจ็ดชั้น พญารากดำ และเถาวัลย์เหล็ก โดยการตัดเป็นท่อนบรรจุใส่ถุงและ

ลำเลียงจากเขา (Figure 1) เนื่องจากภูมิปัญญาของปราชญ์ท้องถิ่นผู้เชี่ยวชาญเรื่องการใช้สมุนไพรในการรักษาโรคและสำเร็จการศึกษาวิชาการแพทย์แผนไทย สาขาเภสัชกรรมและเวชกรรมไทย ได้รับอนุญาตให้เปิดสถานพยาบาลประเภทที่มารับผู้ป่วยไว้ค้างคืน โดยนำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาสรุปเป็นผลการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ และศึกษาฤทธิ์ในหลอดทดลอง ซึ่งเตรียมน้ำชาด้วยวิธีการตามภูมิปัญญาท้องถิ่น จากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดรวมกันในอัตราส่วน 1:1 เป็นน้ำชารวม พบว่าน้ำชารวมพญารากดำ กำแพงเจ็ดชั้น และเถาวัลย์เหล็กสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับน้ำชารวมรากแดง กำแพงเจ็ดชั้น เถาวัลย์เหล็ก และพญารากดำ สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ [19] การเก็บตัวอย่างสมุนไพรสำหรับงานวิจัยนี้จึงปรับขั้นตอนการเตรียมน้ำชา เนื่องจากสามารถพบการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์จากสภาพแวดล้อม เช่น ไลเคนบริเวณเปลือกไม้ จึงจำเป็นต้องกำจัดเชื้อที่ไม่ต้องการออกก่อนเริ่มกระบวนการหมักคอมบูชา โดยเลือกวิธีการฆ่าเชื้อเนื้อไม้สมุนไพรด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ซึ่งมีลักษณะพิเศษที่แตกต่างจากส่วนใบหรือดอก ทำให้ต้องมีข้อพิจารณาพิเศษในการฆ่าเชื้อสมุนไพรที่เป็นเนื้อไม้ที่ความหนาแน่นและความแข็งส่งผลให้น้ำแทรกซึมได้ยาก องค์ประกอบทางเคมีบางประเภทอาจไวต่อความร้อนสูง เช่น น้ำมันหอมระเหยแทนนิน ซาโปนิน [20] นอกจากนี้เทคนิคการฆ่าเชื้อสมุนไพรที่เป็นเนื้อไม้ด้วยหม้อนึ่งความดัน จึงจำเป็นต้องลดขนาดด้วยการหั่นสมุนไพรเป็นชิ้นความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร ยาว ประมาณ 5 เซนติเมตร และแช่สมุนไพรในน้ำสะอาดเป็นเวลา 30-60 นาที ก่อนนำไปฆ่าเชื้อ เพื่อเพิ่มความชื้นและช่วยให้ไอน้ำสามารถแทรกซึมได้ดีขึ้น และหลังการฆ่าเชื้อควรทำให้สมุนไพรแห้งทันทีในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ซ้ำ [21]

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ชีวภาพกับการประกอบธุรกิจ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

²สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหารและความเป็นผู้ประกอบการสมัยใหม่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร



Figure 1 Characteristics of the herb, Cut into sections approximately 1 centimeter thick and 5 centimeters long.

(A) Phaya Rak Dam (*Diospyros variegata* Kurz.)

(B) Thao Wan Lek (*Ventilago calyculata* Tul.)

(C) Kamphaeng Chet Chan (*Salacia chinensis* L.)

(D) Rang Daeng (*Ventilago denticulata* Willd.)

1. ผลการเตรียมหัวเชื้อ SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast)

หัวเชื้อ SCOBY ที่เตรียมด้วยวิธีการเลี้ยงเชื้อจากธรรมชาติซึ่งนับเป็นกลุ่มจุลินทรีย์เริ่มต้น โดยเนื้อสับปรดเป็นแหล่งน้ำตาลธรรมชาติและเอนไซม์โบรมีเลน (bromelain) ย่อยสลายสารประกอบเชิงซ้อนในน้ำชาหรือผลไม้ ให้กลายเป็นกรดอะมิโน และไนโตรเจนที่ละลายน้ำได้ ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานหลักที่จุลินทรีย์นำไปใช้ได้ทันที [16] ส่วนน้ำตาลซูโครสที่เติมลงไปเป็นสารตั้งต้นหลักสำหรับการหมักมีความเข้มข้นน้ำตาลสูงช่วยให้มีแหล่งคาร์บอนเพียงพอสำหรับกระบวนการหมักที่ยาวนาน และยังช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ไม่พึงประสงค์บางชนิดผ่านกลไกแรงดันออสโมติก [2] การเติมน้ำส้มสายชูหมักลงไป เพื่อเพิ่มจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกเข้าไปในระบบ เพื่อผลิตกรดแลคติกและเซลล์ูโลส อีกทั้งยังช่วยลดค่า pH สร้างสภาวะที่เหมาะสมสำหรับแบคทีเรียกรดแลคติก และยีสต์ [22] ระยะเวลาบ่ม 3 เดือน จึงเป็นช่วงเวลาที่ยาวกว่า

การเตรียม SCOBY แบบดั้งเดิม ช่วยเพิ่มความหนาแน่นของแผ่นวุ้น (Figure 2) และความหลากหลายของจุลินทรีย์ เมื่อการหมักเกิดขึ้นโดยสมบูรณ์ ค่า pH จะลดลงอยู่ในช่วง 2.5-3.5 สะท้อนถึงการผลิตกรดอินทรีย์ ซึ่งเป็นผลผลิตจากเมแทบอลิต์ที่สำคัญของกระบวนการหมัก [3] ลักษณะทางกายภาพของแผ่นวุ้นที่ได้มีความหนา ชั้นละ 0.5–1.5 เซนติเมตร [22] และมีลักษณะเป็นชั้นๆ แสดงถึงการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ผลิตเซลล์ูโลสเป็นชั้นซ้อนทับกันตามระยะเวลาการหมัก เกิดจากการสังเคราะห์เซลล์ูโลสโดยแบคทีเรียกรดแลคติก (*Komagataeibacter xylinus*) [16] สำหรับปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์ที่พบในน้ำหมักเมื่อการหมักสมบูรณ์ อยู่ในช่วง 10^5 - 10^6 CFU/มิลลิลิตร และ 10^4 - 10^5 CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ สัดส่วนของแบคทีเรียต่อยีสต์ในน้ำหมักคอมบูชาที่สมบูรณ์มีความสำคัญต่อคุณภาพและความสมดุลของคอมบูชา ยีสต์ส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ทนกรด เช่น *Saccharomyces cerevisiae* และ *Zygosaccharomyces* spp. [2, 5]



Figure 2 The process of preparing SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) starter cultures

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹Program in Biological Product Technology and Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University

²Food Technology and Modern Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University



Figure 3 Character of Herb and Kombucha Herb.

(A) Rang Daeng (*Ventilago denticulata* Willd.)(B) Kamphaeng Chet Chan (*Salacia chinensis* L.)(C) Thao Wan Lek (*Ventilago calyculata* Tul.)(D) Phaya Rak Dam (*Diospyros variegata* Kurz.)

2. ผลการเตรียมผลิตภัณฑ์คอมบูชาสมุนไพรจากสมุนไพร 4 ชนิดด้วยวิธีธรรมชาติ

น้ำชาสมุนไพร 4 ชนิด ความเข้มข้นร้อยละ 37.5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ตามสูตรของปราชญ์ท้องถิ่น (Figure 3) ถูกนำมาผลิตคอมบูชา โดยวิธีการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการหมักแบบดั้งเดิมร่วมกับการใช้วัตถุดิบสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง นับว่าเป็นความเข้มข้นที่สูง [23] เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของชาสมุนไพรเบื้องต้น พบว่าความเข้มข้นที่สูง ส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ ซึ่งพิจารณาจากค่าการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ทั้งหมด ที่มีความเข้มข้นของสมุนไพรอยู่ในช่วงร้อยละ 10-37.5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) (Table 1) พบว่าเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระของน้ำชาสมุนไพร ความเข้มข้นสูตรปราชญ์ท้องถิ่น (ร้อยละ 37 น้ำหนัก/ปริมาตร) ของสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด เทียบกับมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก มีค่าสูงสุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่น ส่วนผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Table 2) ของชาทั้ง 4 ชนิดมีปริมาณใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นชาร้อยละ 37 (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นชาตั้งต้นในการทำคอมบูชา ดังแสดงตาม Figure 3

Table 1 Antioxidant analysis of tea herb.

Tea concentration (% w/v)	% DPPH scavenging (µg/mL)			
	Phaya Rak Dam (<i>Diospyros variegata</i> Kurz.)	Thao Wan Lek (<i>Ventilago calyculata</i> Tul.)	Kamphaeng Chet Chan (<i>Salacia chinensis</i> L.)	Rang Daeng (<i>Ventilago denticulata</i> Willd.)
10	89.81 ± 0.003	94.92 ± 0.007	109.40 ± 0.009	262.94 ± 0.016
15	108.04 ± 0.003	78.67 ± 0.004	82.52 ± 0.008	242.94 ± 0.014
20	121.79 ± 0.005	117.10 ± 0.017	101.48 ± 0.010	241.27 ± 0.003
25	165.85 ± 0.010	152.10 ± 0.010	105.44 ± 0.014	356.69 ± 0.023
30	223.25 ± 0.046	167.63 ± 0.017	92.42 ± 0.013	493.15 ± 0.037
35	213.67 ± 0.011	216.48 ± 0.005	152.00 ± 0.020	451.27 ± 0.044
37.5*	241.48 ± 0.014	223.35 ± 0.008	184.40 ± 0.010	615.54 ± 0.021

Remark*: Local wisdom recipe

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชชีวภาพกับการประกอบธุรกิจ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร²สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหารและความเป็นผู้ประกอบการสมัยใหม่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

Table 2 Total Phenolic Content (TPC) of tea herb.

Tea concentration (% w/v)	Total Phenolic Content (mg Gallic Acid Equivalent (GAE) per gram sample)			
	Phaya Rak Dam (<i>Diospyros variegata</i> Kurz.)	Thao Wan Lek (<i>Ventilago calyculata</i> Tul.)	Kamphaeng Chet Chan (<i>Salacia chinensis</i> L.)	Rang Daeng (<i>Ventilago denticulata</i> Willd)
10	2.04 ± 0.022	1.97 ± 0.069	1.38 ± 0.080	1.95 ± 0.120
15	2.03 ± 0.071	1.96 ± 0.089	1.32 ± 0.060	1.91 ± 0.160
20	2.02 ± 0.058	2.02 ± 0.067	1.52 ± 0.120	1.92 ± 0.020
25	1.99 ± 0.055	2.04 ± 0.039	1.52 ± 0.200	1.95 ± 0.080
30	2.02 ± 0.084	1.99 ± 0.056	1.42 ± 0.050	1.96 ± 0.040
35	2.02 ± 0.074	2.01 ± 0.034	1.92 ± 0.040	1.94 ± 0.130
37.5 *	2.00 ± 0.081	2.01 ± 0.059	1.95 ± 0.090	1.97 ± 0.060

Remark*: Local wisdom recipe

3. ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์คอมบูชาสมุนไพร

ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในคอมบูชาสมุนไพรทั้งหมดเป็นระยะเวลา 7 วัน (Table 3) พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และมีการเพิ่มขึ้นในอัตราที่ลดลงในวันที่ 5-7 ของการหมัก โดยมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 7 ในตัวอย่างคอมบูชาพญารากดำ และเถาวัลย์เหล็กที่ 1.9×10^7 CFU/มิลลิลิตร และ 1.7×10^7 CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ และพบความสัมพันธ์ระหว่างการเพิ่มขึ้นของปริมาณจุลินทรีย์กับการลดลงของค่า pH ระหว่างการหมัก ซึ่งสอดคล้องกับกระบวนการหมักที่จุลินทรีย์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดอินทรีย์ต่างๆ ซึ่งผลิตภัณฑ์คอมบูชาระหว่างการหมัก 1-7 วัน แสดงให้เห็นแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียแอซิดิกอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับการผลิตกรดแอซิดิกและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ โดยในช่วงเริ่มต้น (วันที่ 1-3) โดยปริมาณแบคทีเรียแอซิดิก (Table 4) เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากจุลินทรีย์อยู่ในระยะปรับตัว (lag phase) และยังคงพึ่งพากิจกรรมของยีสต์ที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทานอล ซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์กรดแอซิดิกในภายหลัง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ธรรมชาติจากหัวเชื้อและอุณหภูมิ [16] เมื่อเข้าสู่วันที่ 4-7 แบคทีเรียแอซิดิกเข้าสู่ระยะเติบโตแบบทวีคูณ (exponential

phase) เนื่องจากมีปริมาณเอทานอลจากยีสต์ที่เพียงพอและสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดมากขึ้น (pH 3.5-2.5) ช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์แบคทีเรีย ทำให้ปริมาณแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเป็น 10^7 - 10^8 CFU/มิลลิลิตร ภายในวันที่ 7 การเพิ่มขึ้นนี้สัมพันธ์กับการสะสมกรดแอซิดิกและกรดกลูโคนิก ซึ่งเป็นผลผลิตหลักของแบคทีเรียกลุ่มนี้ โดยปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียแอซิดิก ได้แก่ ความเข้มข้นของเอทานอลที่เป็นสารตั้งต้น ดังนั้นการทำงานของยีสต์ในระยะแรกจึงเป็นตัวกำหนดอัตราการเติบโตของแบคทีเรียแอซิดิก [3] ระดับออกซิเจนก็มีผลต่อการเจริญเนื่องจากแบคทีเรียแอซิดิกเป็นแบบใช้อากาศ [17] และอุณหภูมิที่เหมาะสม (20-30 องศาเซลเซียส) เร่งการเผาผลาญของแบคทีเรียและยีสต์ [6] ประเด็นที่น่าสนใจคือ จากการทดลองพบว่าปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นหากแต่ pH และปริมาณกรดแอซิดิกไม่แปรตามกัน สังเกตได้จากปริมาณแบคทีเรียแอซิดิกค่อนข้างคงที่ทั้งนี้อาจเป็นผลจากอาหารที่เลือกใช้มีการเติมเอทานอลเป็นแหล่งคาร์บอนหลักจะช่วยคัดเลือกกลุ่มที่เปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดแอซิดิกได้โดยตรง และอาจเป็นผลมาจากสายพันธุ์แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงเข้ามาแทนที่สายพันธุ์เดิม ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไปอาจแยกแยะความแตกต่างนี้ไม่ได้ [20, 24]

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹Program in Biological Product Technology and Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University²Food Technology and Modern Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University

Table 3 Total microbial count of kombucha fermented from four medicinal plants.

Fermentation time (days)/ Types of herbs	Total microbial count (CFU/mL)			
	Phaya Rak Dam Kombucha	Kamphaeng Chet Chan Kombucha	Thao Wan Lek Kombucha	Rang Daeng Kombucha
1	2.0×10^4	1.0×10^4	3.2×10^4	7.0×10^4
2	2.2×10^5	8.7×10^5	2.1×10^6	7.0×10^4
3	5.0×10^6	7.8×10^6	2.2×10^6	5.4×10^6
4	1.7×10^6	9.2×10^6	8.9×10^6	1.7×10^6
5	2.7×10^6	2.6×10^6	1.6×10^7	2.0×10^6
6	2.8×10^6	2.9×10^6	1.7×10^7	2.8×10^6
7	1.9×10^7	3.2×10^6	1.7×10^7	3.0×10^6

Table 4 Total acetic acid bacteria of kombucha fermented from four medicinal plants.

Fermentation time (days)/ Types of herbs	Total acetic acid bacteria (CFU/mL)			
	Phaya Rak Dam Kombucha	Kamphaeng Chet Chan Kombucha	Thao Wan Lek Kombucha	Rang Daeng Kombucha
1	3.7×10^5	1.4×10^6	1.5×10^5	3.6×10^5
2	3.0×10^6	3.0×10^6	3.0×10^6	8.2×10^6
3	2.0×10^6	5.0×10^4	1.6×10^6	7.0×10^4
4	2.8×10^6	1.5×10^6	2.6×10^6	6.0×10^5
5	3.0×10^6	2.6×10^6	2.9×10^6	3.5×10^6
6	3.2×10^6	3.1×10^6	3.3×10^6	3.6×10^6
7	3.6×10^6	3.5×10^6	3.5×10^6	3.6×10^6

แนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณยีสต์ (Table 5) ในช่วงเริ่มต้นของการหมัก (วันแรก) มักจะอยู่ในระดับต่ำ (ประมาณ 3–4 log CFU/มิลลิลิตร) แต่เมื่อผ่านไปในช่วงกลางการหมัก (ประมาณวัน 3–7) ยีสต์เริ่มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าปริมาณยีสต์ในกระบวนการหมักคอมบูชามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงกลาง

การหมักและมีค่าปริมาณเฉลี่ยอยู่ในระดับประมาณ 6 log CFU/มิลลิลิตร [2] ซึ่งยีสต์ช่วยสนับสนุนการผลิตเอทานอลและชี้ให้เห็นว่าการเจริญของยีสต์ถือเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อความสมดุลของจุลินทรีย์ในคอมบูชาและมีส่วนร่วมในการพัฒนารสชาติที่เป็นเอกลักษณ์ [25]

Table 5 Total yeast count of kombucha fermented from four medicinal plants.

Fermentation time (days)/ Types of herbs	Total yeast count (CFU/mL)			
	Phaya Rak Dam Kombucha	Kamphaeng Chet Chan Kombucha	Thao Wan Lek Kombucha	Rang Daeng Kombucha
1	1.0×10^4	1.3×10^4	1.8×10^4	4.6×10^4
2	1.6×10^6	1.5×10^5	2.0×10^5	1.5×10^5
3	1.9×10^6	1.5×10^6	1.4×10^6	1.6×10^6
4	2.0×10^6	3.3×10^6	3.3×10^6	4.0×10^6
5	1.6×10^6	2.2×10^6	2.1×10^6	3.2×10^6
6	1.6×10^6	2.0×10^6	2.0×10^6	1.7×10^6
7	1.5×10^6	1.9×10^6	1.9×10^6	1.5×10^6

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตภัณฑ์ชีวภาพกับการประกอบธุรกิจ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

²สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหารและความเป็นผู้ประกอบการสมัยใหม่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

Table 6 pH of kombucha fermented from four medicinal plants.

Fermentation time (days)/ Types of herbs	pH			
	Phaya Rak Dam Kombucha	Kamphaeng Chet Chan Kombucha	Thao Wan Lek Kombucha	Rang Daeng Kombucha
1	3.57	3.26	2.88	3.55
2	3.34	2.96	2.64	3.39
3	3.11	2.85	2.47	3.20
4	3.00	2.71	2.34	3.13
5	2.86	2.68	2.30	3.04
6	2.77	2.67	2.22	2.92
7	2.07	2.52	2.03	2.88

4. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

ค่า pH มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง (Table 6) สะท้อนถึงกระบวนการผลิตกรดที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก โดยในวันแรกค่า pH ลดลงอยู่ระหว่าง 2.88-3.57 เนื่องจากยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ ขณะที่แบคทีเรียกรดแอซิติกเริ่มเปลี่ยนเอทานอลให้กลายเป็นกรดแอซิติก ทำให้ค่า pH ลดลงอย่างชัดเจน วัน 5-7 เมื่อกระบวนการหมักดำเนินไป ค่า pH มักลดลงจนอยู่ในช่วง 2.5-3.5 [22] ซึ่งถือเป็นระดับความเป็นกรดที่เหมาะสมสำหรับคอมบูชา ผลที่ได้คือผลิตภัณฑ์ที่มีรสเปรี้ยวอมหวานกลมกล่อมและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ [6] โดยพบกรดแอซิติกที่ตรงกับสารมาตรฐานที่เวลา 6.3 นาที เมื่อพิจารณา Table 7 พบว่าคอมบูชาพญารากดำและเถาวัลย์เหล็ก มีปริมาณกรดแอซิติกสูงที่สุด โดยแบคทีเรียแอซิติกในคอมบูชาสายพันธุ์ *Acetobacter xylinum* หรือ *Komagataeibacter* spp. มักผลิตกรดแอซิติกได้สูง โดยความแตกต่างอาจเกิดจากชนิดของชา ปริมาณสารตั้งต้นสำหรับจุลินทรีย์ อีกทั้งระยะเวลาการหมักนาน 14-21 วัน ทำให้เกิดการสะสมกรดแอซิติกมากขึ้น [16]

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานเคออสติน พบว่าคอมบูชาพญารากดำ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์

ทั้งหมดสูงที่สุด (1.149 ± 0.039 มิลลิกรัม/กรัม) รองลงมาคือ คอมบูชารางแดง (0.300 ± 0.004 มิลลิกรัม/กรัม) ส่วนคอมบูชากำแพงเจ็ดชั้น และเถาวัลย์เหล็กมีปริมาณต่ำ (0.077 ± 0.004 และ 0.086 ± 0.002 มิลลิกรัม/กรัมตามลำดับ) (Table 8) ปัจจัยที่ส่งผลต่อความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ได้แก่ ชนิดของวัตถุดิบ เนื่องจากพืชแต่ละชนิดมีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกัน สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเครื่องดื่มคอมบูชาสมุนไพร พบว่าไม่พบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลฟรุคโตส กลูโคส ซูโครส มอลโทส และน้ำตาลทั้งหมด จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC (Table 9) เป็นปริมาณต่ำสุดที่เครื่องมือวิเคราะห์ได้ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้สำหรับเครื่องดื่มหมักเพื่อสุขภาพ [16] ซึ่งน้ำตาลรีดิวซ์ในคอมบูชาเป็นผลมาจากกระบวนการหมักโดยแบคทีเรียและยีสต์ ซึ่งเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นกรดอินทรีย์และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ [2] ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ต่ำบ่งชี้ว่ากระบวนการหมักเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ จุลินทรีย์ได้ใช้น้ำตาลส่วนใหญ่ในการเจริญเติบโต และสร้างเมแทบอลิต์ทุติยภูมิ เป็นข้อดีสำหรับผู้บริโภคที่ต้องการควบคุมปริมาณน้ำตาลในอาหาร โดยเฉพาะผู้ที่มีภาวะเบาหวานหรือผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จึงถือเป็นหนึ่งในพารามิเตอร์ที่ใช้ในการประเมินคุณภาพและระยะเวลาการหมักที่เหมาะสมของคอมบูชา

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹Program in Biological Product Technology and Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University²Food Technology and Modern Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University

Table 7 Acetic acid content of kombucha fermented from four medicinal plants.

Herbal kombucha	Acetic acid content (mg/g)	% w/w
Phaya Rak Dam	0.63 ± 0.004	0.063
Kamphaeng Chet Chan	0.45 ± 0.001	0.045
Thao Wan Lek	0.61 ± 0.003	0.061
Rang Daeng	0.51 ± 0.011	0.051

Table 8 Total flavonoid content of kombucha fermented from four medicinal plants.

Herbal kombucha	Total Flavonoid Content	
	mg QE/g	% (TFC)
Phaya Rak Dam	1.149 ± 0.039	0.115
Kamphaeng Chet Chan	0.077 ± 0.004	0.008
Thao Wan Lek	0.086 ± 0.002	0.009
Rang Daeng	0.300 ± 0.004	0.030

Table 9 Reducing sugar and natural sugar of kombucha fermented from four medicinal plants.

Sugar	Content	Unit
Reducing sugar	ND	g/100 ml
Fructose	ND	g/100 ml
Glucose	ND	g/100 ml
Sucrose	ND	g/100 ml
Maltose	ND	g/100 ml
Total sugar	ND	g/100 ml

Remark: ND means Not Detected

การติดตามปริมาณแอลกอฮอล์ในคอมบูชาจึงมีความสำคัญทั้งในแง่ของการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์และการปฏิบัติตามข้อกำหนดทางกฎหมายเกี่ยวกับเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ (Table 10) พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์ในคอมบูชาสมุนไพรมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 7 วันของการหมัก โดยเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 3 วันแรก และเพิ่มขึ้นในอัตราที่ช้าลงในวันที่ 6-7 ของการหมัก โดยมีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดในวันที่ 7 ที่ร้อยละ 2.95 ในคอมบูชาพญารากดำ และเถาวัลย์เหล็ก การเพิ่มขึ้นของปริมาณแอลกอฮอล์มีความสัมพันธ์กับการลดลงของค่า pH และการลดลงของปริมาณน้ำตาลที่เหลือในคอมบูชา ซึ่งสอดคล้องกับกระบวนการหมักที่ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ [2] โดยอัตราการ

เพิ่มของ ABV ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและแหล่งน้ำตาล [16] ค่า TDS (Table 11) เป็นตัวชี้วัดสำคัญที่บ่งบอกถึงปริมาณสารประกอบที่ละลายในคอมบูชา ซึ่งเกี่ยวข้องกับโดยตรงกับรสชาติ คุณภาพ และมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ การติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า TDS ในระหว่างกระบวนการหมักจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการควบคุมคุณภาพและความสม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์คอมบูชา จากผลการวิเคราะห์พบว่าค่า TDS ในคอมบูชาสมุนไพรมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 7 วันของการหมัก แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบที่ละลายได้ในคอมบูชา โดยเฉพาะน้ำตาลซึ่งถูกจุลินทรีย์เปลี่ยนเป็นกรดอินทรีย์ แอลกอฮอล์ และสารประกอบอื่นๆ การลดลงของค่า TDS มีความสัมพันธ์โดยตรงกับการลดลงของค่า %Brix

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ชีวภาพกับการประกอบธุรกิจ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

²สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหารและความเป็นผู้ประกอบการสมัยใหม่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

ซึ่งเป็นตัวชี้วัดปริมาณน้ำตาลในคอมบูชา มีความสัมพันธ์ของปริมาณกรดทั้งหมดในระหว่างกระบวนการหมักในทิศทางเดียวกันกับค่า pH กล่าวคือ เมื่อค่า TDS [26] ลดลง ค่า pH ก็ลดลงด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้น

Table 10 Alcohol content of kombucha fermented from four medicinal plants.

Fermentation time (days)/ Types of herbs	% Alcohol by Volume (ABV)			
	Phaya Rak Dam Kombucha	Kamphaeng Chet Chan Kombucha	Thao Wan Lek Kombucha	Rang Daeng Kombucha
1	1.77	1.18	0.00	1.77
2	1.77	1.18	0.00	1.77
3	2.36	1.18	0.59	2.36
4	2.36	1.18	2.95	2.36
5	2.95	1.18	2.95	2.36
6	2.95	1.77	2.95	2.95
7	2.95	1.77	2.95	2.95

Table 11 Total dissolved solids (TDS) of kombucha fermented from four medicinal plants.

Fermentation time (days)/ Types of herbs	Total dissolved solids (TDS) (g/L)			
	Phaya Rak Dam Kombucha	Kamphaeng Chet Chan Kombucha	Thao Wan Lek Kombucha	Rang Daeng Kombucha
1	187.00	195.50	212.50	187.00
2	187.00	195.50	212.50	178.50
3	178.50	195.50	212.50	178.50
4	178.50	195.50	212.50	170.00
5	178.50	195.50	212.50	170.00
6	178.50	187.00	204.00	178.50
7	170.00	187.00	170.00	178.50

5. วิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของผลิตภัณฑ์คอมบูชาสมุนไพร

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของคอมบูชาสมุนไพรที่มีส่วนประกอบของพญารากดำ กำแพงเจ็ดชั้น เถาวัลย์เหล็ก และรางแดง พบว่าค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้ง DPPH ได้ร้อยละ 50 (Effective concentration by 50%: EC₅₀) มีการเปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาการหมัก ซึ่งสะท้อนถึงความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีในแต่ละช่วงเวลา โดยทั่วไปค่าที่ต่ำกว่าสะท้อนถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบ

ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระของคอมบูชาสมุนไพร ดัง Table 12 พบว่า คอมบูชาพญารากดำ มีค่า EC₅₀ ต่ำที่สุดในวันที่ 4 (164.50 ± 0.004 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในช่วงเวลาดังกล่าว คอมบูชากำแพงเจ็ดชั้น มีค่า EC₅₀ อยู่ในช่วง 92.42 – 155.36 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยค่าต่ำสุดเกิดขึ้นในวันที่ 4 (92.42 ± 0.008 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) แสดงถึงประสิทธิภาพที่ดีในช่วงเวลานี้ คอมบูชาเถาวัลย์เหล็กแสดงค่าต่ำสุดในวันที่ 4 (104.86 ± 0.014 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และมีค่าที่เพิ่มขึ้นหลังจากวันดังกล่าว ซึ่งอาจ

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹Program in Biological Product Technology and Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University

²Food Technology and Modern Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University

เป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างกระบวนการหมัก และคอมบูชาวางแแดง แสดงให้เห็นค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดในวันที่ 2 (226.43 ± 0.104 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) แต่ค่ามีแนวโน้มลดลงในวันที่ 4 และ 6 ก่อนที่จะเพิ่มขึ้นอีกครั้ง ในวันที่ 7 ส่วนประกอบจากสมุนไพรจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันไปตามชนิดของสมุนไพรและระยะเวลาการหมัก โดยเฉพาะ

ในช่วง 3-5 วันแรกของกระบวนการหมักที่มีการผลิตสารฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์สูงสุด [24] นอกจากนี้ยังพบว่าค่า EC_{50} ของคอมบูชาที่มีส่วนประกอบจากสมุนไพร เช่น ชิง และชาเขียว อยู่ในช่วง 90-150 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร [25] ซึ่งใกล้เคียงกับค่าที่พบในการศึกษานี้ โดยเฉพาะคอมบูชากำแพงเจ็ดชั้น ที่มีค่าประมาณ 92.42 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในวันที่ 4

Table 12 EC_{50} of kombucha fermented from four medicinal plants.

Fermentation time (days)/ Types of herbs	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)			
	Phaya Rak Dam Kombucha	Kamphaeng Chet Chan Kombucha	Thao Wan Lek Kombucha	Rang Daeng Kombucha
1	71.84 $\pm$ 0.021	113.51 $\pm$ 0.031	114.45 $\pm$ 0.014	192.10 $\pm$ 0.062
2	70.96 $\pm$ 0.018	93.82 $\pm$ 0.012	108.61 $\pm$ 0.002	226.43 $\pm$ 0.104
3	120.96 $\pm$ 0.012	94.45 $\pm$ 0.016	108.77 $\pm$ 0.009	189.14 $\pm$ 0.050
4	164.50 $\pm$ 0.004	92.42 $\pm$ 0.008	104.86 $\pm$ 0.014	174.19 $\pm$ 0.021
5	105.09 $\pm$ 0.012	96.74 $\pm$ 0.005	152.47 $\pm$ 0.009	214.92 $\pm$ 0.063
6	89.19 $\pm$ 0.011	113.93 $\pm$ 0.019	173.35 $\pm$ 0.007	167.94 $\pm$ 0.036
7	94.59 $\pm$ 0.004	155.36 $\pm$ 0.008	189.55 $\pm$ 0.002	210.63 $\pm$ 0.036

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของผลิตภัณฑ์คอมบูชาสมุนไพรที่หมักในช่วงเวลา 1-7 วัน ดัง Table 13 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนระหว่างชนิดของสมุนไพรที่ใช้และระยะเวลาการหมัก โดยคอมบูชาพญารากดำมีค่าปริมาณฟีนอลิกสูงสุดในช่วงวันที่ 7 (156.99 ± 0.022 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ขณะที่คอมบูชาเถาวัลย์เหล็กมีค่าต่ำสุดที่วันที่ 5 (93.44 ± 0.292 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) การเปลี่ยนแปลงนี้สามารถอธิบายได้จากกระบวนการหมักเป็นระยะเวลานานช่วยเพิ่มปริมาณสารฟีนอลิกในคอมบูชาเนื่องจากกระบวนการย่อยสลายสารประกอบพอลิ

แซ็กคาไรด์และโปรตีนของจุลินทรีย์ส่งผลให้เกิดสารประกอบฟีนอลิกมากขึ้น [2] แต่บางรายงานการวิจัยกล่าวว่าหากหมักเป็นเวลานานเกินไป อาจส่งผลให้สารฟีนอลิกบางชนิดเสื่อมสภาพและลดปริมาณลงได้ [26] นอกจากนี้งานวิจัยคอมบูชาที่ใช้พืชสมุนไพรที่มีสารฟีนอลิกสูง เช่น ขมิ้นชันและชาเขียว มีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าคอมบูชาที่ใช้พืชสมุนไพรที่มีสารฟีนอลิกต่ำ [18] การศึกษานี้สามารถอธิบายผลลัพธ์ของคอมบูชาพญารากดำและกำแพงเจ็ดชั้นที่มีค่าสูงกว่าคอมบูชาเถาวัลย์เหล็กและรางแดง ซึ่งอาจเนื่องมาจากองค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ชีวภาพกับการประกอบธุรกิจ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

²สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหารและความเป็นผู้ประกอบการสมัยใหม่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

Table 13 Total phenolic content (TPC) of kombucha fermented from four medicinal plants.

Fermentation time (days)/ Types of herbs	Total Phenolic Content (TPC) (µg/ml)			
	Phaya Rak Dam Kombucha	Kamphaeng Chet Chan Kombucha	Thao Wan Lek Kombucha	Rang Daeng Kombucha
1	146.71±0.054	129.72±0.109	90.89±0.203	100.75±0.163
2	72.68±0.556	137.83±0.169	89.75±0.282	102.06±0.204
3	157.59±0.019	135.31±0.156	84.03±0.175	90.50±0.181
4	156.20±0.032	139.49±0.218	93.44±0.292	101.52±0.208
5	156.52±0.032	139.66±0.223	106.69±0.283	95.76±0.049
6	156.77±0.023	128.80±0.202	117.30±0.261	20.62±0.095
7	156.99±0.022	126.58±0.202	121.45±0.256	20.55±0.166

6. ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี 9-Hedonic scale

ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสบนพื้นฐานของผลการวิเคราะห์สถิติ ด้านคุณลักษณะประกอบด้วยลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์คอมบูชาสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ รางแดง กำแพงเจ็ดชั้น พญารากดำ และเถาวัลย์เหล็ก

ด้วยผู้ทดสอบ จำนวน 30 คน ดัง Table 14 แสดงให้เห็นว่าผู้ทดสอบมีระดับความพึงพอใจด้านการยอมรับคอมบูชาสมุนไพรรางแดง (5.6) มากกว่าชนิดอื่น โดยลักษณะปรากฏ (6.16) และสี (6.13) ของคอมบูชาสมุนไพรเถาวัลย์เหล็ก ได้รับความพึงพอใจสูงกว่าชนิดอื่น ด้านกลิ่นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และด้านรสชาติ พึงพอใจคอมบูชาสมุนไพรพญารากดำ (6.00) มากกว่า

Table 14 Sensory evaluation of kombucha fermented from four medicinal plants.

Characteristic	Herbal kombucha			
	Phaya Rak Dam	Kamphaeng Chet Chan	Thao Wan Lek	Rang Daeng
Appearance	5.86 ^{ab} ±1.04	5.70 ^b ±0.91	6.16 ^a ±0.87	5.67 ^b ±1.04
Color	6.00 ^{ab} ±1.05	5.73 ^{ab} ±0.86	6.13 ^a ±0.89	5.53 ^b ±0.81
Smell ^{ns}	5.43±0.97	5.33±1.09	5.23±1.16	5.70±0.91
Taste	6.00 ^a ±1.08	4.83 ^b ±0.94	4.86 ^b ±1.00	5.30 ^b ±1.08
Acceptance	5.96 ^a ±0.69	5.40 ^b ±1.03	5.36 ^b ±1.15	5.60 ^{ab} ±0.96

Remark: n = 30

Statistically significant differences. (p≤0.05)

^{ns} No statistically significant difference. (p>0.05)

9-Point Hedonic Scale mean 9=Like Extremely, 8=Like Very Much, 7=Like Moderately, 6=Like Slightly, 5=Neither Like nor Dislike, 4=Dislike Slightly, 3=Dislike Moderately, 2=Dislike Very Much, 1=Dislike Extremely

สรุปผล

สมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ รางแดง กำแพงเจ็ดชั้น พญารากดำ และเถาวัลย์เหล็ก สามารถนำมาผลิตคอมบูชาที่มีประสิทธิภาพได้ โดยเลือกสูตรการต้มชาคือ ความเข้มข้นร้อยละ 37.5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ซึ่งเป็น

สูตรปราศรัยท้องถิ่น เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระ อยู่ในช่วง 184.40 ± 0.010 ถึง 615.54 ± 0.021 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยชารางแดงมีค่าสูงสุด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) อยู่ในช่วง 1.95 ± 0.09 ถึง 2.01 ± 0.059 มิลลิกรัม/กรัม โดยชา

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹Program in Biological Product Technology and Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University

²Food Technology and Modern Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University

เกาวัลย์เหล็กมีค่าสูงสุด ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณแบคทีเรียแอซิดิก ปริมาณยีสต์ที่พบในผลิตภัณฑ์ ในหน่วย CFU/มิลลิลิตร มีค่าเป็นไปตามมาตรฐานของ ผลิตภัณฑ์ ซึ่งมีค่าเป็นไปตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ ซึ่งปริมาณเฉลี่ยอยู่ในระดับประมาณ 6 log CFU/ มิลลิลิตร ในวันท้ายของช่วงที่ศึกษาปริมาณกรดแอซิดิก อยู่ในช่วง 0.451 ± 0.0005 ถึง 0.625 ± 0.0036 มิลลิกรัม ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าสูงในสุดคอมบูชาพาราควา และต่ำสุดในคอมบูชากำแพงเจ็ดชั้น ไม่พบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลธรรมชาติ ในหน่วย กรัม/100 มิลลิลิตร จากคอมบูชาสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ สำหรับเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ อีกทั้งปริมาณ แอลกอฮอล์ทั้งหมดในคอมบูชาสมุนไพรมีแนวโน้ม เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลา 7 วันของการหมัก โดยเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 3 วันแรก และเพิ่มขึ้นใน อัตราที่ช้าลงในวันที่ 6-7 ของการหมัก โดยมีปริมาณ แอลกอฮอล์สูงสุดในวันที่ 7 ที่ร้อยละ 2.95 ปริมาณ ของแข็ง สารอินทรีย์ และสารอินทรีย์ทั้งหมดที่ละลาย อยู่ในน้ำ อยู่ในช่วง 170.00-212.50 กรัม/ลิตร ผลการ ประเมินความชอบโดยรวมอยู่ในระดับเฉยๆ ผู้วิจัยจึงมี แนวคิดพัฒนารสชาติ และต่อยอดงานวิจัยด้านการลด ของเหลือทิ้งในกระบวนการหมักด้วยการผลิตภัณฑ์ แผ่นฟิล์มรับประทานได้จากหัวเชื้อ SCOBY เหลือทิ้งใน อนาคต

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้ได้รับเงินทุนอุดหนุนจาก เงิน งบประมาณแผ่นดิน ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและ นวัตกรรม (สกว.) ปีงบประมาณ 2567 มหาวิทยาลัย ราชภัฏพระนคร โครงการวิจัย เรื่องสมบัติเชิงหน้าที่ของ คอมบูชาที่ผลิตจากสมุนไพรในพื้นที่วิทยาลัยชัยบาดาล พิพัฒน์ มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร (Functional properties of kombucha herbs in Chai Badan Phiphat College area, Phranakhon Rajabhat University)

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ชีวภาพกับการประกอบธุรกิจ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

²สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหารและความเป็นผู้ประกอบการสมัยใหม่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

เอกสารอ้างอิง

- [1] Villarreal-Soto, S.A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J.P. and Taillandier, P. (2018). Understanding kombucha tea fermentation: A review. *Journal of Food Science*. 83(3): 580–588. doi:10.1111/1750-3841.14068
- [2] Jayabalan, R., Malbaša, R.V., Lončar, E.S., Vitas, J.S. and Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea— Microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 13(4): 538–550. doi:10.1111/1541-4337.12073
- [3] Dufresne, C. and Farnworth, E. (2000). Tea, kombucha, and health: A review. *Food Research International*. 33(6): 409–421. doi:10.1016/S0963-9969(00)00067-3
- [4] Battikh, H., Chaieb, K., Bakhrouf, A. and Ammar, E. (2012). Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas. *Journal of Food Biochemistry*. 36(3): 276–283. doi:10.1111/j.1745-4514.2011.00534.
- [5] Marsh, A.J., O’Sullivan, O., Hill, C., Ross, R.P. and Cotter, P.D. (2014). Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology*. 38 : 171 – 178 . doi:10.1016/j.fm.2013.09.003
- [6] Greenwalt, C.J., Steinkraus, K.H. and Ledford, R.A. (2000). Kombucha, the fermented tea: Microbiology, composition, and claimed health effects. *Journal of Food*

- Protection. 63(7): 976–981. doi:10.4315/0362-028X-63.7.976
- [7] Vina, I., Semjonovs, P., Linde, R. and Deniņa, I. (2013). Current evidence on the biological effects of kombucha fermented beverage. *Journal of Medicinal Food*. 16(2): 95–101. doi:10.1089/jmf.2012.0031
- [8] Watawana, M.I., Jayawardena, N., Gunawardhana, C.B. and Waisundara, V.Y. (2015). Enhancement of the antioxidant and starch hydrolase inhibitory activities of king coconut water by fermentation with kombucha 'tea fungus.' *International Journal of Food Science & Technology*. 50(1): 190–197. doi:10.1111/ijfs.12611
- [9] Morales-de la Peña, M., Miranda-Mejía, G.A. and Martín-Belloso, O. (2023). Recent trends in fermented beverages processing: The use of emerging technologies. *Beverages*. 9(51): 2–13. doi:10.3390/beverages9020051
- [10] Trivunović, Z., Vitas, J., Puškaš, V., Zahović, I., Zeljko, M., Malbaša, R., & Dodić, J. (2025). Herbal kombucha vinegar: Biotechnological perspective, biological potential and sensory evaluation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 101, 103955. doi.org/10.1016/j.ifset.2025.103955
- [11] Kris-Etherton, P.M., Hecker, K.D., Bonanome, A., Coval, S.M., Binkoski, A.E., Hilpert, K.F., Griel, A.E., and Etherton, T.D. (2002). Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine*. 113(9): 71–88. doi:10.1016/S0002-9343(01)00995-0
- [12] Roberfroid, M.B. (2000). A European consensus of scientific concepts of functional foods. *Nutrition*. 16(7-8): 689–691. doi:10.1016/s0899-9007(00)00329-4
- [13] Sangsirimongkolying, R., Chalopakorn, P. and Maisont, S. (2022). Study of alpha-amylase and lipase enzymes inhibitory activity of herb tea modified method from local wisdom. *Science, Technology, and Social Sciences Procedia*. 4: rsgp008.
- [14] U.S. Food and Drug Administration. (2001). *Bacteriological analytical manual (BAM): Chapter 18: Yeasts, molds and mycotoxins*.
- [15] Levai, L.D, Tah, Y., Monono, E.Y., Enow, L., Tatsinkou, F.B., Akoachere, J.F.K., and Titanji, V.P.K. (2021). Isolation and identification of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria playing a lead role in the fermentation of cocoa in Fako Division of Cameroon. *Journal of Advances in Microbiology*. 21(11): 28–41. doi:10.9734/jamb/2021/v21i1130403
- [16] Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*. 64(4): 555–559. doi:10.1016/S0308-8146(98)00102-2
- [17] AOAC. (2023). *Official methods of analysis of AOAC international method 977.20: Separation of sugars in honey: HPLC method*. Rockville, MD, USA.
- [18] Chen, C. and Zhao, W. (2013). Antioxidant properties of kombucha tea. *Food*

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹Program in Biological Product Technology and Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University²Food Technology and Modern Entrepreneurship, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University

- Chemistry. 138(2-3):1579–1585. doi:10.1016/j.foodchem.2012.11.069
- [19] Duncan, D.B. (1955). Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*. 11(1): 1–42. doi:10.2307/3001478
- [20] Matsushita, K., Toyama, H., Tonouchi, N. and Abe, A. (Eds.). (2016). *Acetic acid bacteria: Ecology and physiology*. Springer. doi:10.1007/978-4-431-55933-7
- [21] Sharma, N., Bhardwaj, N.K. and Singh, A. (2019). Comparison of antioxidant activity, DNA protective potentials and clinical toxicity of kombucha tea prepared from three different sources. *Journal of Food Science and Technology*. 56(2): 701–711. doi:10.1007/s13197-018-3528-z
- [22] Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D. and Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*. 220: 63–72. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015
- [23] Li, X., Xu, Y., Xiao, S., Luo, C., Zou, L., Zhao, J., Xiang, D. and Wang, A. (2025). Enhancement of bioactivity and flavor profiles of Tartary buckwheat through kombucha fermentation by enrichment of *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Food Process Engineering*. 48(11): e70268. doi:10.1111/jfpe.70268
- [24] Gomes, R.J., Borges, M.D.F., Rosa, M.D S., Castro-Gómez, R.J.H. and Spinosa, W.A. (2018). Acetic acid bacteria in the food industry: Systematics, characteristics and applications. *Food Technology and Biotechnology*. 56(2): 139–151. doi:10.17113/ftb.56.02.18.5593
- [25] Sirisa-ard, P., Bovonsombut, S., Kitipornchai, C., Natakarnkitkul, S., Tragoolpua, Y., Pukumpuang, W., Klawpiyapamornkun, T. and Kiatkarun, S. (2015). Development of kombucha: Fermented tea beverage. *International Journal of Tea Science*. 11(1&2): 9–13. doi:10.5555/20153362851
- [26] Chaluvadi, S., Hotchkiss, A.T., Jr., Smith, B., McVaugh, B., White, A.K., Guron, G.K.P., Renye, J.A., and Yam, K. L. (2024). Key kombucha process parameters for optimal bioactive compounds and flavor quality. *Fermentation*. 10(12): 605. doi:10.3390/fermentation10120605

*Corresponding author e-mail: pemika@pnru.ac.th

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ชีวภาพกับการประกอบธุรกิจ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร

²สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหารและความเป็นผู้ประกอบการสมัยใหม่ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร