คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและสมบัติทางพฤกษเคมีขององุ่นและไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PHYTOCHEMICAL PROPERTIES OF GRAPE AND WINE FORTIFIED WITH MEDICINAL PLANTS

นางสาวจิดาภา ทองโล่ง

นางสาวจุฑารัตน์ จิตต์เลขา

นายรังสรรค์ งิ้วสูง

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2556

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและสมบัติทางพฤกษเคมีขององุ่นและไวน์องุ่นผสมสมุนไพร Antioxidant activity and phytochemical properties of grape and wine fortified with medicinal plants	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวจิดาภา ทองโล่ง	นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 53050416
	นางสาวจุฑารัตน์ จิตต์เลขา	นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 53050420
	นายรังสรรค์ งิ้วสูง	นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 53050508
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต	
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ	
ปีการศึกษา	2556	
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ	

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2556

คณะกรรมการสอบ	**ลายมือชื่อ**
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ	
ประธานกรรมการ รศ.อารี ฤทธิบูรณ์	
กรรมการ รศ. ดร. มาริสา จาตุพรพิพัฒน์	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและสมบัติทางพฤกษเคมีขององุ่นและไวน์องุ่นผสมสมุนไพร
ชื่อนักศึกษา	นางสาวจิดาภา ทองโล่ง
	นางสาวจุฑารัตน์ จิตต์เลขา
	นายรังสรรค์ งิ้วสูง
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2556
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและสมบัติทางพฤกษเคมีของเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรรวมทั้งหมด 10 สูตร ในการหมักไวน์ได้ผสมน้ำองุ่นปั่นกับน้ำสมุนไพรแต่ละสูตรในอัตราส่วน 60 ต่อ 40 โดยเปรียบเทียบการหมักในสภาวะที่แตกต่างกัน 2 สภาวะคือในสภาวะที่ 1 ได้ผสมกากสมุนไพรเข้ากับของผสมน้ำองุ่นปั่นและน้ำสมุนไพร ส่วนในสภาวะที่ 2 ใช้ของผสมเช่นเดียวกับสภาวะที่ 1 แต่ไม่เติมกากสมุนไพร ผลปรากฏว่าน้ำสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์ที่ประกอบด้วยเหง้ากระชายดำร้อยละ 2.64 มะขามป้อม ร้อยละ 1.76 สมอไทยร้อยละ 0.88 ผลพิลังกาสาร้อยละ 0.62 ดอกอัญชันร้อยละ 0.35 แปะก๊วยร้อยละ 0.24 และไวน์องุ่นผสมสมุนไพรสูตรเดียวกันซึ่งผ่านการหมักแบบพร้อมกากสมุนไพรมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (การยับยั้งอนุมูล DPPH เท่ากับ 91.95 และ 95.99 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ ความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 4.22 และ 3.57 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังพบว่าเครื่องดื่ม 2 ชนิดดังกล่าวที่ความเจือจาง 1:10,000 มีกิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสูงสุด (ร้อยละ 22.78 และ 19.10 ตามลำดับ) และยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (494.44 และ 239.71 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (383.22 และ 372.67 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) และปริมาณสารแทนนินทั้งหมด (338.29 และ 157.67 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลำดับ) สูงที่สุดอีกด้วย นอกจากนี้ยังได้วิเคราะห์สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากองุ่น (*Vitis vinifera*) พบว่ามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ดังนี้คือ การยับยั้งอนุมูล DPPH เท่ากับ 2.02 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัด และความสามารถในการรีดิวซ์ 0.01 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร กิจกรรมการต้านอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับร้อยละ 0.71 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 5.97 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 201 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด และปริมาณสารแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 55.35 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

คำสำคัญ: สมุนไพร ไวน์ อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antioxidant activity and phytochemical properties of grape and wine fortified with medicinal plants
Students	Miss. Jidapa Thonglong Miss. Jutharat Jitlakha Mr. Rangsan Ngiewsung
Degree	Bachelor of Science
Major	Biotechnology
Academic Year	2013
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Suree Nanasombat

ABSTRACT

In this study, a total of 10 formulations of pasteurized medicinal plant beverages and grape wine fortified with medicinal plants were analyzed for their antioxidant activities and some phytochemical properties. In fermentation of these wines, blended grape juice was mixed with medicinal plant water of each formulation in the ratio of 60:40. Two different fermentation conditions were compared. The first condition, pieces of sliced medicinal plant materials were mixed with the mixture of blended grape juice and medicinal plant water. In the second condition, the same mixture was used, but the pieces of sliced medicinal plant materials were not added. The results showed that a medicinal plant beverage which contained 2.64% *Kaempferia parviflora* (rhisome), 1.76% *Phyllanthus emblica* Linn (fruits), 0.88% *Terminalia chebula* (fruits), 0.62% *Ardisia colorata* (fruits), 0.62% *Clitor ternatea* L (flowers) and 0.62% *Ginkgo biloba* L (leaves) and grape wine fortified with medicinal plant material had the highed antioxidant activities DPPH radical inhibition of 91.95 and 93.25 mg trolox equivalents/100 ml beverages, respectively and reducing capacity of 4.22 and 3.57 mmol Fe(II)/100 ml beverages, respectively. In addition, these two beverages at 1:10,000 dilution of the beverage had the highest antiacetylcholinesterase activity (22.78% and 19.10% inhibition, respectively). They also had the highest total phenolic (494.44 and 239.71 mg gallic acid equivalents (GAE)/100 ml beverages, respectively), total

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

flavonoid (383.22 and 372.67 mg catechin equivalents (CE)/100 ml beverages, respectively) and total tannin contents (338.29 and 157.67 mg tannic equivalents (TAE)/100 ml beverages, respectively). In addition some grape phytochemical properties of (*Vitis vinifera*) extract, was analyzed. The antioxidant activities of grape extract were DPPH radical inhibition of 2.02 mg trolox equivalents/g extract and reducing capacity of 0.01 mmol Fe(II)/g extract. The acetylcholinesterase inhibitory activity was 0.71% inhibition. The total phenolic, flavonoid and tannin contents were 5.97 mg GAE/g extract, 201 mg CE/g extract and 55.35 mg TAE/g extract, respectively.

Keywords: Thai medicinal plant, Wine, Acetylcholinesterase, Antioxidant activity.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ ที่ให้คำแนะนำตลอดจนได้ทำการถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ในการปฏิบัติงานที่ดีแก่ผู้จัดทำ ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง และขอกราบขอบพระคุณประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ รศ.อารี ฤทธิบูรณ์ และ รศ. ดร. มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ กรรมการสอบโครงงานพิเศษ รวมทั้งคำแนะนำ ตรวจสอบ ชี้แนะในการแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการต่างๆ

ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจและให้คำปรึกษาในการทำโครงงานพิเศษนี่ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณเพื่อนและพี่ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่อง ให้ข้อคิดเห็น กำลังใจและมิตรภาพที่ดีตลอดมา

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงงานพิเศษฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ในโครงงานพิเศษนี้

\

นางสาวจิดาภา ทองโล่ง
นางสาวจุฑารัตน์ จิตต์เลขา
นายรังสรรค์ งิ้วสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
สารบัญ	VI
สารบัญรูป	XI
สารบัญตาราง	XII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการทดลอง	3
1.3 ขอบเขตของการทดลอง	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 สมุนไพร	4
2.1.1 ประเภทและลักษณะของสมุนไพร	4
2.1.2 รสต่างๆของสมุนไพร	5
2.2 สมุนไพรไทยที่ใช้ในการวิจัย	6
2.2.1 กระชายดำ	6
2.2.2 ขิง	6
2.2.3 บัวบก	7
2.2.4 บัวหลวงแดง	8
2.2.5 แปะก๊วย	8
2.2.6 พิลังกาสา	9
2.2.7 มะขามป้อม	10
2.2.8 รากระย่อม	11
2.2.9 ลำดวน	11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.2.10 ว่านน้ำ	11
2.2.11 สมอไทย	13
2.2.12 สัตตบงกช	13
2.2.13 สีเสียดเทศ	13
2.2.14 หญ้าฝรั่น	13
2.2.15 อัญชัน	14
2.3 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในสมุนไพร	16
2.4 ไวน์	17
2.4.1 การผลิตน้ำหมักไวน์	17
2.4.2 กระบวนการหมัก	18
2.4.3 การบ่มไวน์ (maturation of wine)	21
2.4.4 การกรอง การทำให้ใส และการบรรจุขวด	21
2.4.5 การหมักมาโลแลคติก	22
2.5 สารสำคัญที่พบในองุ่นและไวน์	24
2.5.1 ฟลาวานอล ฟลาโวนอล และไดไฮโดรฟลาโวนอล	24
2.5.1.1 การสกัดสารลงในไวน์	27
2.5.2 แอนโทไซยานิน (anthocyanins)	28
2.5.2.1 สารแอนโทไซยานินและสารที่เป็นอนุพันธ์ของสารประกอบแอนโทไซยานินในไวน์	29
2.6 อนุมูลอิสระ (free radical)	31
2.6.1 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ (Sources of free radical)	31
2.6.1.1 ปัจจัยภายในร่างกาย	32
2.6.1.2 ปัจจัยภายนอกร่างกาย	32
2.7 สารต้านอนุมูลอิสระ	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.7.1 หมวดหมู่ของสารต้านอนุมูลอิสระ	33
2.7.2 วิธีการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์	34
2.7.2.1 วิธีการกำจัดอนุมูล DPPH	34
2.7.2.2 วิธี Reducing Power	36
2.7.2.3 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	36
2.7.3 สารต้านอนุมูลอิสระและกลไกการทำงาน	37
2.7.3.1 กลไกการดักจับอนุมูลอิสระ	37
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	39
3.1 อุปกรณ์	39
3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง	39
3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง	39
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	39
3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	39
3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	40
3.2 วิธีการทดลอง	41
3.2.1 การวิเคราะห์องุ่นสด	41
3.2.1.1 การสกัดองุ่นสด	41
3.2.1.2 การวิเคราะห์สารสกัดจากองุ่น	41
ก) การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	41
ข) การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	42
ค) การหาปริมาณแทนนินทั้งหมด	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ง) การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส	42
ฉ) การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ	44
ฉ.1 การวัดความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical	44
ฉ.2 การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assey	44
3.2.2 การเตรียมเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพร	45
3.2.2.1 การเตรียมน้ำสมุนไพร	46
3.2.2.2 การหมักไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพร	46
3.2.2.3 การวิเคราะห์เครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพร	47
3.2.2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	51
บทที่ 4 ผลการทดลอง	52
4.1 การวิเคราะห์องุ่นสด	52
4.2 การวิเคราะห์สารสกัดองุ่น	52
4.3 การวิเคราะห์สมบัติทางพฤษเคมีของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์เครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่ผ่านการหมัก	52
4.3.1 ค่าพีเอช ปริมาณกรดทั้งหมด และการวัดค่าสี	52
4.3.2 สมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส	57
4.3.3 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ	58
4.3.3.1 ความสามารถในการกำจัด 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical	58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3.3.2 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดย วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay	60
4.3.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	61
4.3.5 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	61
4.3.6 ปริมาณแทนนินทั้งหมด	63
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	68
เอกสารอ้างอิง	70
ภาคผนวก	75
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	76
ภาคผนวก ข การเตรียมสารละลาย	77
ภาคผนวก ค การคำนวณ	92
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี *In vivo*	109
ภาคผนวก จ การศึกษากราฟการเจริญของยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5019	111
ภาคผนวก ฉ การวิเคราะห์ทางสถิติของสมบัติทางพฤษเคมีในเครื่องดื่ม	117

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 กระชายดำ 7

2.2 ขิง 7

2.3 บัวบก 9

2.4 บัวหลวงแดง 9

2.5 แปะก๊วย 10

2.6 พิลังกาสา 10

2.7 มะขามป้อม 11

2.8 รากระย่อม 12

2.9 ลำดวน 12

2.10 ว่านน้ำ 12

2.11 สมอไทย 14

2.12 สัตตบงกช 15

2.13 สีเสียดเทศ 15

2.14 หญ้าฝรั่น 15

2.15 อัญชัน 16

2.16 กระบวนการหมักมาโลแลคติก 23

2.17 โครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอยด์ 25

2.18 โครงสร้างโมโนเมอร์และไดเมอร์ของฟลาวานอล 25

2.19 โครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานิน 29

2.20 กลไกของปฏิริยาออกซิเดชันไขมัน 35

2.21 สารต้านอนุมูลอิสระ 35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 สมบัติทางพฤกษเคมีและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอุ่น วิตามินอี และกาแลนทามีน	53
4.2 ส่วนประกอบของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์และไวน์อุ่นผสมสมุนไพร	54
4.3 ค่าพีเอช ปริมณกรดทั้งหมดและค่าสีของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์และไวน์อุ่นผสมสมุนไพร	55
4.4 สมบัติทางพฤกษเคมีของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์และไวน์อุ่นผสมสมุนไพร	59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

องุ่น (*Vitis vinifera*) เป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจเนื่องจากมีการบริโภคกันอย่างแพร่หลายในรูปขององุ่นสด น้ำองุ่นและยังนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการทำไวน์ องุ่นประกอบไปด้วยสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งในผิวองุ่น เนื้อองุ่นและเมล็ดองุ่นในปริมาณที่แตกต่างกัน (Baydar และคณะ, 2004 ; Bekhit และคณะ, 2011) ฟลาโวนอยด์ เรสเวอราทรอล (resveratrol) แอนโธไซยานิน (Yang และคณะ, 2009) นอกจากนี้ยังพบฟลาโวนอล และไดไฮโดรฟลาโวนอลได้ในองุ่น (Terrier และคณะ, 2009) สารสำคัญในองุ่นนี้อาจเกี่ยวข้องกับการมีสมบัติทางพฤกษเคมีที่สำคัญ เช่น มีรายงานการตรวจพบกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระขององุ่น (Fahmi และคณะ, 2013) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าน้ำองุ่นสามารถป้องกันความเสียหายที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโปรตีน ลดปริมาณไนตริกออกไซด์ และช่วยเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ (ซูเปอร์ออกไซด์ไดมิวเทสและคะตะเลส) และที่ไม่ใช่เอนไซม์ (sulfhydryl protein) ในหนู (Rodrigues และคณะ, 2012) องุ่นที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vitis vinifera* เป็นองุ่นที่มักใช้ในการผลิตไวน์กันทั่วโลก ซึ่งจะมีในทวีปยุโรปเป็นหลักส่วนในอเมริกาใช้องุ่นหลายชนิด เช่น *Vitis labrusca, Vitis riparia, Vitis aestivalis, Vitis rupestris* และ *Vitis rotundifolia* ในการผลิตไวน์ (Singlecton, 1982) สำหรับในองุ่นแดงมีรายงานว่าประกอบไปด้วยสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ ฟลาโวนอล ฟลาโวน และคอนเดนส์แทนนิน (Shahidi และ Naczk, 2004) และยังมีรายงานเกี่ยวกับสมบัติการต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับในผลองุ่น (Mulero และคณะ, 2010)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นปกติถูกสร้างขึ้นในปริมาณมากซึ่งเป็นผลพลอยได้ในระหว่างกระบวนการเมแทบอลิซึมและสามารถเกิดขึ้นในร่างกายระหว่างการติดเชื้อและระหว่างการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Fahmi และคณะ, 2013) ซึ่งปัจจุบันมีหลักฐานที่ชี้ให้เห็นว่าอนุมูลอิสระเกี่ยวข้องกับทำลายส่วนประกอบสำคัญของเซลล์รอบๆบริเวณนั้นไม่ว่าจะเป็นโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต หรือดีเอ็นเอ ทำให้สารชีวโมเลกุลเหล่านี้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและเสียหน้าที่การทำงาน ดังนั้นในสภาวะที่มีการสร้างอนุมูลอิสระเป็นจำนวนมากจะก่อให้เกิดการบาดเจ็บ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเซลล์ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพต่างๆ โดยโรคที่มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระที่สะสมในร่างกาย ได้แก่ โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคอัลไซเมอร์ (Ames และคณะ, 1993) โดยเฉพาะโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) ซึ่งเป็นโรคสมองเสื่อม (dementia) ชนิดหนึ่งที่พบได้บ่อยที่สุดในกลุ่มประชากรผู้สูงอายุ 1 คน ในทุกๆ 8 คน ของประชากรที่มีอายุมากกว่า 65 ปี ส่วนผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 85 ปีขึ้นไป มีโอกาสเป็นโรคอัลไซเมอร์ร้อยละ 40-50 และในผู้สูงอายุบางกลุ่มมีโอกาสเป็นโรคอัลไซเมอร์มากกว่าร้อยละ 50 (Swerdlow, 2011) การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสเป็นวิธีการอย่างหนึ่งสำหรับการรักษาโรคอัลไซเมอร์ โรคสมองเสื่อมจากความชรา ซึ่งบทบาทหลักของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสคือจะทำให้มีการสิ้นสุดการส่งผ่านกระแสประสาทบริเวณช่องว่างโคลีนเนอร์จิก (cholinergic synapse) โดยการไฮโดรไลซิสของอะซิติลโคลีนอย่างรวดเร็ว มียาที่ได้จากการสังเคราะห์ 2-3 ชนิด เช่น ยาทาครีน (tacrine) ยาโดนีพีซิล (donepesil) และผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติที่มีลักษณะคล้ายกับ rivestigmine ที่ใช้ในการประเมินว่ามีการเสื่อมการทำงานของสมอง (cognitive dysfunction) และการสูญเสียความทรงจำที่เกี่ยวข้องกับโรคสมองเสื่อม เคยมีการรายงานว่าสารเหล่านี้จะไปรบกวนระบบทางเดินอาหาร จึงจำเป็นต้องค้นหาสารยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสจากแหล่งธรรมชาติที่ดีกว่ายาสังเคราะห์ (Mukhrjee และคณะ, 2007)

สมุนไพรหลายชนิดมีรายงานว่ามีสมบัติทางพฤกษเคมีที่ดีหลายประการ เช่น สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ สมบัติการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส และสมบัติการต้านจุลินทรีย์ ธนวรรณและคณะ (2555) ได้รายงานว่า สารสกัดจากกระชายดำ (*Kaempferia parviflora*) ดอกบัวสัตตบงกช (*Nelumbo nucifera*) รากระย่อม (*Rauvolfia serpentine*) และบัวบก (*Centella asiatica*) มีกิจกรรมในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้มากกว่าร้อยละ 70 สำหรับสารสกัดจากสมอไทย (*Terminalia chebula*) สมุลแว้ง (*Cinnamomum bejolghota*) สีเสียดเทศ (*Uncaria gambir*) และมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH ได้ดีที่สุดโดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 387.23 ถึง 490.47 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) และมีความสามารถในการรีดิวซ์ที่ดีที่สุดซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 774.41 ถึง 656.19 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด นอกจากนี้สารสกัดว่านน้ำ (*Acorus calamus*) ชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata*) หญ้าฝรั่น (*Crocus sativus*) บัวหลวงแดง (*Nymphaea lotus*) และมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ได้ดี (ค่า MIC เท่ากับ 0.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจที่จะนำสมุนไพรเหล่านี้มาใช้เป็นส่วนผสมเพิ่มเติมนอกจากองุ่นในการผลิตไวน์ ซึ่งอาจทำให้ไวน์มีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงยิ่งขึ้น มีสมบัติการเอนไซม์อะซิติล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โคลีนเอสเทอเรสช่วยต้านโรคสมองเสื่อม และยังมีปริมาณสารสำคัญเป็นส่วนประกอบปริมาณมากยิ่งขึ้น ประกอบกับการมีสารจากสมุนไพรที่ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้ไวน์เสีย ซึ่งจะทำให้ไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่ผลิตขึ้นมีอายุการเก็บที่ยาวนาน

1.2 วัตถุประสงค์ของการทดลอง

1. เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดขององุ่นที่ใช้ทำไวน์ เครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมสมุนไพร
2. เพื่อผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

1.3 ขอบเขตของการทดลอง

ทำการศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและกิจกรรมทางพฤกษเคมีอื่นๆ ขององุ่นและสมุนไพรไทยหลายชนิดรวมถึงผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์ ไวน์องุ่น และไวน์องุ่นผสมสมุนไพร คัดเลือกเครื่องดื่มที่มีกิจกรรมดังกล่าวที่สูง เพื่อเป็นแนวทางในพัฒนาการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรและไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทำให้ทราบคุณสมบัติทางด้านพฤกษเคมี เช่น สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณสารแทนนินทั้งหมดของเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สมุนไพร

ในพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน พุทธศักราช 2542 ให้ความหมายคำว่า สมุนไพร คือ ผลิตผลทางธรรมชาติที่ได้จากพืช สัตว์และธาตุ ที่นำมาใช้เป็นยา หรืออาจเป็นการผสมกับสารชนิดอื่นตามตำรับยา เพื่อจะนำมาใช้ในการบำบัดโรค บำรุงร่างกายหรือในอีกทางจะใช้เป็นยาพิษ ตัวอย่างเช่น กระเทียม เขากวางอ่อน น้ำผึ้ง กำมะถัน เป็นต้น (พิสุทธิพร, 2537)

ส่วนทางพระราชบัญญัติยาพุทธศักราช 2510 ได้ให้ความหมายของคำว่า สมุนไพร คือตัวยาที่ได้มาจากส่วนของพืช สัตว์ โดยที่ยังไม่ได้รับการผสมปรุงหรือแปลงสภาพ ฉะนั้นสมุนไพร (Medicine Plant หรือ Herb) จึงมีความหมายว่า สิ่งที่เกิดขึ้นมาจากธรรมชาติ และมีคุณค่าสำหรับมนุษย์เรื่องของการรักษาโรคสุขภาพ อีกทั้งยังได้รวมไปถึงเรื่องความสวยความงามของมนุษย์ (พิสุทธิพร, 2537)

การที่จะนำสมุนไพรชนิดต่างๆมาใช้ให้เกิดประโยชน์ควรจะต้องทำความเข้าใจสรรพคุณของสมุนไพรแต่ละชนิดที่จะนำมาใช้ว่าจะใช้คุณประโยชน์และให้โทษอย่างไรบ้าง หรือถ้าหากได้นำไปผสมกับสิ่งอื่นแล้วจะมีสรรพคุณที่มีความแตกต่างอย่างไร หรืออาจจะให้โทษอย่างไร ดังนั้นเมื่อต้องการจะนำสมุนไพรมาใช้จึงจำเป็นจะต้องเรียนรู้ถึงวิธีการใช้ให้ถูกต้อง รวมไปถึงความรู้จากนักวิทยาศาสตร์ที่ได้ทำการวิเคราะห์ไว้หรือได้ทำการวิจัยถึงคุณและโทษว่ามีอย่างไรบ้าง และยังต้องรู้ถึงเรื่องขนาดปริมาณของการใช้ว่าจะต้องมากน้อยเท่าใดจึงจะได้ผลและเหมาะกับผู้ใช้ และยังมีข้อสำคัญอีกอย่างที่พึงจะต้องกระทำคือเรื่องของความสะอาด เพราะถ้าละเลยในเรื่องนี้แทนที่จะได้ผลดีก็อาจกลับกลายเป็นผลเสียแก่ผู้ใช้ก็ได้ (พิสุทธิพร, 2537)

2.1.1 ประเภทและลักษณะของสมุนไพร

สมุนไพรแต่ละชนิดที่นำมาใช้ประโยชน์จะมีคุณสมบัติและให้คุณค่าที่แตกต่างกันออกไป โดยสามารถแบ่งลักษณะของสมุนไพรได้ 5 ลักษณะ (พิสุทธิพร, 2537)

1) ราก เป็นส่วนของพืชที่อยู่ใต้พื้นดิน ไม่มีข้อและปล้อง ซึ่งจะมีหน้าที่ช่วยการดูดซึมและการสะสมอาหารเพื่อจะนำมาบำรุงเลี้ยงลำต้นและส่วนต่างๆแล้วยังสามารถช่วยยึดลำต้นในการยืน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำต้นได้อย่างแข็งแรง รากของสมุนไพรสามารถแบ่งออกได้ 2 ชนิด รากแก้วและรากฝอย เพราะรากสามารถทำหน้าที่ดูดซึมอาหาร ฉะนั้นสารอาหารที่ล้วนแต่มีประโยชน์ทั้งหลายนั้น ก็จะรวมกันอยู่ที่รากเป็นจำนวนมาก รากของพืชจึงสามารถนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรได้เป็นอย่างดี ตัวอย่างเช่น ตะไคร้ ขมิ้น กระชาย หญ้าคา และขิง

2) ลำต้น เป็นส่วนสำคัญของพืชซึ่งสามารถค้ำยันเพื่อมิให้พืชโค่นล้ม และยังมีหน้าที่ในส่วนของการลำเลียงอาหารไปยังส่วนต่างๆ ของพืช ดังนั้นลักษณะของลำต้นจึงแบ่งได้ 3 ส่วน ได้แก่ ตา ข้อ และปล้อง

3) ใบ เป็นส่วนประกอบของพืชที่มีความสำคัญของพืช เพราะจะมีหน้าที่ในส่วนของการสังเคราะห์และผลิตอาหาร ซึ่งยังเป็นส่วนที่เกิดจากด้านนอกของตาหรือกิ่ง ส่วนมากจะมีลักษณะเป็นสีเขียวโดยเกิดจากสารคลอโรฟิลล์จะมีอยู่ในใบของพืช ซึ่งใบจะสามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด ได้แก่ ใบเลี้ยงเดี่ยว โดยใน 1 ก้าน จะมีใบเพียงใบเดียวเท่านั้น ตัวอย่างเช่น กานพลู ยอ กระวาน ใบประกอบ โดยใน 1 ก้าน ก็จะมีใบตั้งแต่ 2 ใบขึ้นไป ตัวอย่างเช่น มะขามแขก ขี้เหล็ก ป่าน แคมะขาม ส่วนใบของพืชสามารถนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรได้หลายชนิด ตัวอย่างเช่น ใบชะพลู ใบฝรั่ง ใบชุมเห็ดเทศ ใบฟ้าทะลายโจร ใบกะเพรา เป็นต้น

4) ดอก เป็นส่วนของพืชที่สามารถนำมาใช้ในการแพร่พันธุ์ได้ จะเป็นลักษณะพิเศษของพืชแต่ละประเภท โดยดอกที่มีลักษณะสมบูรณ์จะต้องมีส่วนประกอบสำคัญอยู่ 5 ส่วน ได้แก่ ก้านดอก กลีบรอง กลีบดอก เกสรตัวผู้ เกสรตัวเมีย ซึ่งมีดอกของต้นไม้อยู่หลายชนิดที่สามารถนำมาใช้ทำยาสมุนไพรให้ได้ผลเป็นอย่างดี ตัวอย่างเช่น ดอกลำโพง ชุมเห็ดเทศ ดอกคำฝอย พิกุล มะลิ อัญชัน กานพลู เป็นต้น

5) ผล ลักษณะของผลพืชแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกัน ดังนั้นในการนำมาใช้ประโยชน์ของผลจึงสามารถใช้ได้หลายวิธี รวมทั้งการนำมาแปรรูปและบริโภค ผลของพืชที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการทำเป็นสมุนไพรได้ ตัวอย่างเช่น มะตูม กล้วย ดีปลี มะแว้ง มะเกลือ เป็นต้น

2.1.2 รสต่างๆ ของสมุนไพร

การแพทย์ไทยในยุคก่อนได้ทำการบันทึกไว้ โดยเฉพาะในการแบ่งตัวยาของสมุนไพร ด้วยการใช้รสต่างๆ ของสมุนไพรเป็นตัวแยกจำพวก ซึ่งก็สามารถทำการแยกตัวยาด้วยรสต่างๆ ถึง 9 รส (พิสุทธิพร, 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก) **รสหวาน** นิยมใช้ให้เกิดความกระชุ่มกระชวย ทำให้เกิดกำลังเป็นยาบำรุง

ข) **รสฝาด** นิยมใช้ในทางสมานแก้บิด ปิดธาตุ

ค) **รสขม** นิยมใช้แก้อาการผิดปกติในโลหิตของสตรี ส่วนยาสมุนไพรจีนจะใช้ขับพิษและแก้คัน

ง) **รสเมา** นิยมใช้แก้พิษเสมหะ และโลหิต

จ) **รสเผ็ดร้อน** นิยมใช้แก้ลมชนิดต่างๆ แล้วยังช่วยบำรุงธาตุ ส่วนยาสมุนไพรจีนใช้เป็นยาระบาย

ฉ) **รสหอมเย็น** นิยมใช้ให้เกิดความชื่นใจ ช่วยบำรุงหัวใจ

ช) **รสมัน** นิยมใช้แก้ทางเส้นเอ็น และบำรุงไขข้อ

ซ) **รสเปรี้ยว** นิยมใช้ในการขับเสมหะ ส่วนยาสมุนไพรจีนจะใช้เป็นการสมาน และโรคเหงื่อออกมาก

ฌ) **รสเค็ม** นิยมใช้กับผิวหนังภายนอก แก้กลากเกลื้อน

2.2 สมุนไพรที่ใช้ในการวิจัย

2.2.1 กระชายดำ

กระชายดำชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker จัดเป็นพวกพืชล้มลุก ประเภทมีเหง้า ใบยาวรี มีรากสะสมอาหารทำให้มีลักษณะอวบอ้วน (รูปที่ 2.1) มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว มีสีน้ำตาลอ่อน หุ้มด้วยเปลือกบางๆ พบได้ทั่วไปตามที่ชื้นแฉะ ชาวบ้านมักนิยมนำมาปลูกไว้เก็บเหง้า รับประทานเป็นเครื่องเทศ ส่วนที่ใช้คือเหง้าใต้ดิน รากและใบ สรรพคุณคือเหง้าใต้ดินมีรสเผ็ดร้อน แก้ปวดท้อง แก้ปวดมวนในท้อง แก้ท้องอืดเฟ้อ บำรุงกำลัง บำรุงกำหนัด แก้กามตายด้าน ยารักษาริดสีดวงทวาร เหง้าและรากแก้บิด มูกเลือด เป็นยาขับปัสสาวะ แก้ปัสสาวะพิการ เป็นยาภายนอก รักษาโรคขี้กลาก ใบบำรุงธาตุ แก้โรคในปาก คอ แก้โลหิตเป็นพิษ ถอนพิษต่างๆทั้งส่วนรากและต้น (สุนทรี, 2536)

2.2.2 ขิง

ขิงมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Zingiber officinale* Roscoe. (รูปที่ 2.2) มีสรรพคุณคือเหง้ามีรสเผ็ดร้อนใช้เป็นเครื่องเทศปรุงอาหารแต่งกลิ่น ช่วยขับลม แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ คลื่นไส้ อาเจียน ไอ หอบ ขับเสมหะ บิด ต้นช่วยขับลม บรรเทาอาการจุกเสียด ท้องร่วงอาเจียน ใบบรรเทาอาการฟกช้ำจากการกระทบกระแทก รักษานิ่ว ปัสสาวะ ฆ่าพยาธิและโรคตา ดอกใช้ฆ่าพยาธิ ช่วยย่อยอาหาร รักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิ่ว ปัสสาวะขัด ผลรักษาอาการไข้ บำรุงน้ำนม เป็นยาอายุวัฒนะ คอแห้ง เจ็บคอ ตาฟาง รากช่วยขับลม เจริญอาหาร รักษาบิด (สมสุข, 2542)

รูปที่ 2.1 กระชายดำ

ที่มา:http://www.bloggang.com/viewdiary.php?id=jiujik1&month=072011&date (20 ส.ค. 2556)

รูปที่ 2.2 ขิง

ที่มา: http://supakitfagtong.wordpress.com (15 มี.ค. 2557)

2.2.3 บัวบก

บัวบกมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Centella asiatica* Urben. ชื่ออังกฤษ Indian pennywort หรืออีกชื่อหนึ่งคือ Tiger Herbal (สุนทรี, 2536) ลักษณะเป็นไม้มีอายุนานหลายปี เลื้อยยาวไปตามพื้นดิน รากงอกตามข้อลำต้น ใบเป็นใบเดี่ยวค่อนข้างใหญ่ ขอบใบหยักก้านใบยาว (รูปที่ 2.3) ดอกเป็นดอกเดี่ยว ในบางครั้งออกเป็นช่อเล็ก ผลค่อนข้างแบน พบได้ทั่วไปตามบริเวณที่ชื้นแฉะ ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด ส่วนที่ใช้คือใบและต้นสด สรรพคุณ ใบและต้นสดคั้นมีสรรพคุณบรรเทาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก แผลฝีหนอง หรือแผลสด ลดอาการนูนของแผลเป็นที่แข็งเป็นไต ช่วยให้แผลเป็นแข็งนุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลงได้ หากรักประทานเป็นประจำ น้ำบัวบกแก้ช้ำใน กระหายน้ำ ข้อควรระวังคือบางรายอาจมีอาการแพ้บัวบก เมื่อรับประทานเข้าไปแล้วจะรู้สึกใจสั่น มึนงง วิงเวียน แต่จะหายภายใน 3 ชั่วโมง กรณีที่แพ้ไม่มาก ส่วนรายที่แพ้รุนแรงอาจน้ำให้แขนขากระตุกเกร็ง หายใจขัด ชีพจรเต้นแรง เร็ว หนาวสั่น อาเจียน ท้องร่วง ถ่ายเป็นเลือด ให้หยุดรับประทาน อาการดังกล่าวก็จะหายไปได้เอง (ธารธรรมแก้ว, 2537)

2.2.4 บัวหลวงแดง

บัวหลวงแดงมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Nymphaea lotus* Linn. อยู่ในวงศ์ Nymphaeaceae ลักษณะเป็นพืชน้ำ ลำต้นกลมยาวเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร ฝังตัวอยู่ใต้ดิน คืบไปตามแนวดิน ใบกลมใหญ่ เส้นผ่าศูนย์กลาง 40 เซนติเมตร ก้านใบแข็งปกคลุมไปด้วยหนามเล็กสั้น ก้านใบมีความยาวมาก ดอกเป็นดอกเดี่ยวขนาดใหญ่สีขาว หรือชมพู (รูปที่ 2.4) ผลเป็นฝักคล้ายถ้วย มีเมล็ดฝังอยู่ หัวโผล่มาเล็กน้อย พบตามหนองบึงทั่วไป แต่มักนำมาปลูกเก็บดอกถวายพระ ส่วนที่ใช้คือ ราก ใบ เกสร เมล็ด และดีบัว รากบัวมีรสหอมหวานอุดมไปด้วยคุณค่าทางอาหาร มีสรรพคุณบำรุงกำลังช่วยเจริญอาหาร แก้ร้อนในกระหายน้ำ แก้ไอ ใบมีสรรพคุณลดความดันโลหิต เกสรชงดื่มบำรุงหัวใจ แก้ไข้ แก้ลม ช่วยให้สดชื่น เมล็ดบัวช่วยบำรุงร่างกายในผู้ที่เพิ่งฟื้นไข้ ดีบัวมีสรรพคุณใช้เป็นยาขยายหลอดเลือดให้เลือดไปเลี้ยงหัวใจได้สะดวกขึ้น ช่วยละลายไขมันที่เกาะตามผนังเลือด (ธารธรรมแก้ว, 2537)

2.2.5 แปะก๊วย

แปะก๊วยมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Ginkgo biloba* L. จัดอยู่ในวงศ์ Ginkgoaceae จัดว่าเป็นพืชดึกดำบรรพ์จากหลักฐานของฟอสซิลมีอายุราว 200 ล้านปี ต่างจากพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกันที่สูญพันธุ์หมดแล้ว แปะก๊วยเป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ สูงถึง 30 เมตร ใบคล้ายพัด ผลค่อนข้างกลม เมล็ดมี 1 เมล็ด เปลือกผลแข็ง (รูปที่ 2.5) มีกลิ่นเฉพาะ เป็นพืชพื้นเมืองของจีนและญี่ปุ่น ปัจจุบันได้มีการเพาะพันธุ์ไปทั่วโลกแต่จากรายงานยังไม่พบการเพาะพันธุ์ในประเทศไทย ส่วนที่ใช้คือเมล็ด เนื้อใน และใบ (พิสุทธิพร, 2537)

สรรพคุณ เภสัชจีนใช้เมล็ดและเนื้อในนำมาประกอบเป็นอาหาร และใช้เป็นยาบำบัดอาการหอบหืด ปัสสาวะผิดปกติ ทุกครั้งที่นำมาใช้จะต้องทำให้สุกก่อนเสมอ ไม่เช่นนั้นจะทำให้ยาและอาหารชนิดนั้นเป็นพิษ ใบช่วยบำรุงหัวใจและปอด บรรเทาอาการไอ หืด และแพ้ต่างๆโดยเฉพาะ

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้สูงอายุใบแปะก๊วยจะช่วยป้องกันโรคสมองขาดเลือด ความดันโลหิตสูง โรคหูอื้อ หูหนวก เฉียบพลัน ปัญหาเรื่องการทรงตัว หอบหืด โรคความจำเสื่อมอาการเลือดไปเลี้ยงในส่วนต่างๆ ไม่พอ (พิสุทธิพร, 2537)

2.2.6 พิลังกาสา

พิลังกาสามีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Ardisia colorata* Roxb. ส่วนที่ใช้คือใบ ดอก เมล็ด ราก ผล และต้น (รูปที่ 2.6) พบได้ทั่วไปตามชายป่า สรรพคุณ ใบแก้โรคตับพิการ แก้ท้องเสีย แก้ไอ แก้ลม ใบอ่อนรับประทานเป็นผักได้ ดอกฆ่าเชื้อโรค แก้พยาธิ เมล็ดแก้ลมพิษ รากแก้กามโรค และหนองใน พอกปิดแผล ถอดพิษงู ผลแก้ไข้ ท้องเสีย ต้นแก้โรคผิวหนัง โรคเรื้อน (สุนทรี, 2536)

รูปที่ 2.3 บัวบก

ที่มา: http://health.kapook.com/view38571.html (19 ส.ค. 2556)

รูปที่ 2.4 บัวหลวงแดง

ที่มา: http://www.prachathon.org/forum/?topic=3709 (19 ส.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.5 แปะก๊วย

ที่มา: http://www.sappe.com/sappe/beautylounge/beautylounge10.html (18 ส.ค. 2556)

รูปที่ 2.6 พิลังกาสา

ที่มา: http://www.ajareeherb.com/2010-06-10-03-39-49/2010-07-12-05-02-26.html (19 ส.ค. 2556)

2.2.7 มะขามป้อม

มะขามป้อมมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Phyllanthus emblica* Linn. ชื่ออังกฤษ Indian Gooseberry ส่วนที่ใช้คือน้ำจากผลและผลโตเต็มที่ (รูปที่ 2.7) สรรพคุณน้ำจากผลคือแก้ท้องเสีย ขับปัสสาวะ ผลแก้ไอ ขับเสมหะ ทำให้ชุ่มคอ วิธีและปริมาณที่ใช้ ผลโตเต็มที่จำนวนไม่จำกัด รับประทานเป็นผลไม้ กัดเนื้อเคี้ยวอมบ่อยๆ แก้ไอ หรือใช้ผลสด 10-30 ผล ตำคั้นน้ำรับประทานแก้ท้องเสีย ขับปัสสาวะมะขามป้อมสดมีวิตามินซีประมาณร้อยละ 1-2 มะขามป้อม 1 ผล มีปริมาณวิตามินซีเท่ากับที่มีในส้ม 2 ผล (สุนทรี, 2536)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.8 รากระย่อม

รากระย่อมมีชื่อวิยาศาสตร์คือ *Rauvolfia serpentina* L. Benth ex Kurz (รูปที่ 2.8) สรรพคุณคือรากลดความดัน ระงับปวด เป็นยากล่อมประสาท แก้ไข้ ขับระดู แก้บิด ท้องเดิน ขับพยาธิ ยาต้มราก ขับปัสสาวะ น้ำจากใบ ชาวอินเดียใช้รักษาโรคตามัว (สมสุข, 2542)

2.2.9 ลำดวน

ลำดวนมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Melodorum fruticosum* Lour. อยู่ในวงศ์ Annonaceae มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดย่อมสูง 3-8 เมตร เปลือกเรียบสีน้ำตาล ใบเรียวรูปหอก ปลายและโคนแหลม ดอกเดี่ยวออกที่ง่ามใบ กลีบคล้ายกลีบของดอกบัวหลวงแต่มีลักษณะเล็กและหนามีสีเหลืองนวลประกอบด้วย 3 กลีบทรงกลมปลายแหลมไม่เรียว (รูปที่ 2.9) กลิ่นหอม เกิดตามป่าเต็งรังและป่าโปร่ง โดยมีสรรพคุณดังนี้ ดอกมีรสหอมเย็นแก้ลม วิงเวียน บำรุงหัวใจ บำรุงโลหิต ชูกำลัง แก้ไข้ (วุฒิ, 2550)

2.2.10 ว่านน้ำ

ว่านน้ำมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Acorus calamus* Linn. อยู่ในวงศ์ Araceae (รูปที่ 2.10) มีสรรพคุณคือเหง้าเป็นยาขับลม ยาหอม แก้ธาตุพิการ เหง้าต้มกับขิงและไพลกินแก้ไข้ ผสมชุมเห็ดเทศ แก้โรคผิวหนังแก้ไข้จับสั้น บำรุงประสาท โรคหลอดลม บิดในเด็ก เป็นยาขม ช่วยเจริญอาหาร ขับเสมหะ ขับระดู ขับปัสสาวะ แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ น้ำมันจากต้นแก้อาการชัก ระงับปวด รากแก้ปวดฟัน แก้หวัดลงคอ หลอดลมอักเสบ ใบสดตำสุมกระหม่อมเด็กแก้หวัดคัดจมูก พอกแก้อาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ (สมสุข, 2542)

รูปที่ 2.7 มะขามป้อม

ที่มา: http://herb.thaibizcenter.com/HerbDetail.asp?id=2151 (19 ส.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.8 รากระย่อม

ที่มา: http://student.nu.ac.th/46313433/Thaiherb/rayomnoy.htm (15 มี.ค. 2557)

รูปที่ 2.9 ลำดวน

ที่มา: http://www.thaigreengarden.com/plantlunduan.html (20 ส.ค. 2556)

รูปที่ 2.10 ว่านน้ำ

ที่มา: http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=124 (15 มี.ค. 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.11 สมอไทย

สมอไทยมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Terminalia chebula* Retz. ชื่ออังกฤษ Myrobalan Tree ส่วนที่ใช้คือผลอ่อน ผลแก่ ผล และใบ (รูปที่ 2.11) พบทั่วไปตามป่าดิบแล้ง ป่าเบญจพรรณ ผลัดใบราวเดือนกุมภาพันธ์ เรื่อยมาจนถึงเดือนธันวาคม ติดผลในราวเดือนตุลาคมเรื่อยไปจนถึงเดือนมกราคม สรรพคุณ ผลอ่อนมีฤทธิ์เป็นยาระบาย ถ่ายเสมหะ ลดไข้ ขับลมในลำไส้ ผลแก่มีฤทธิ์เป็นยาฝาดสมาน แก้ท้องเดิน ผลใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง มีแทนนินมาก ใช้ทำหมึก ใบเป็นยาสมานแผล เป็นยาบำรุงถุงน้ำดี วิธีและปริมาณที่ใช้คือใช้ผลอ่อน 5-6 ผล หรือ 30 กรัม ต้มกับน้ำ 1 ถ้วยแก้ว ใส่เกลือเล็กน้อย รับประทานครั้งเดียวจะถ่ายหลังให้ยาประมาณ 2 ชั่วโมง (สุนทรี, 2536)

2.2.12 สัตตบงกช

สัตตบงกชมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Nelumbo mucifera* Gaerth. (รูปที่ 2.12) มีสรรพคุณคือราก แก้ท้องร่วงในเด็ก ขับเสมหะ เกสรปรุงเป็นยาหอม ยาชูกำลัง เหง้าและเมล็ดมีรสหวาน บำรุงกำลัง แก้ร้อนใน กระหายน้ำ ใบอ่อนใช้เป็นผักจิ้ม กลีบบัวรีดให้แห้งใช้มวนบุหรี่ ฝักบัวเป็นอาหารมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ดอกช่วยขับเสมหะ (สมสุข, 2542)

2.2.13 สีเสียดเทศ

สีเสียดเทศมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Uncaria gambir* (Hunter) Roxb. จัดอยู่ในวงศ์ Rubiaceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้น เนื้อแข็ง ใบเดี่ยวรูปหอกปลายและโคนแหลม ขอบหยัก ผิวเรียบ สีเขียวเข้ม ก้านใบมีหนามแหลมเหมือนเขาควาย ดอกเป็นกระจุกรวมกันเป็นช่อกลม ใช้ใบและกิ่งก้านมาต้มเคี่ยวแล้วเอายางทำเป็นก้อน เป็นสีน้ำตาลอ่อน ผิวไม่เรียบมัน (รูปที่ 2.13) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ทำให้ความดันเลือดต่ำและฆ่าเชื้อโรค โดยสรรพคุณของสีเสียดเทศมีดังนี้ สีเสียดเทศมีรสฝาดนำมาบดเป็นผงหรือต้มรับประทาน ช่วยแก้ท้องร่วง แก้บิดมูกเลือด แก้อติสาร ทาสมานแผล ช่วยห้ามเลือด กำเดา นอกจากนี้สามารถนำมาใส่แผลริดสีดวง แผลเน่าเปื่อย ทำเป็นยาอมและยาบ้วนปากได้ (วุฒิ, 2550)

2.2.14 หญ้าฝรั่น

หญ้าฝรั่นมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Crocus sativus* L. จัดอยู่ในวงศ์ Lridaceae เป็นพืชที่มีลำต้นใต้ดินเป็นหัวที่เรียกว่าคอร์ม (corm) เป็นพืชที่มีอายุได้หลายปี ดอกโผล่ขึ้นมาจากดิน (รูปที่ 2.14) การเก็บดอกมาใช้จะเก็บเมื่อดอกเริ่มบาน โดยหญ้าฝรั่นเป็นเครื่องเทศที่มีราคาแพงมากที่สุดชนิดหนึ่ง ประเทศที่ปลูกหญ้าฝรั่นเพื่อขายเป็นสินค้า ได้แก่ สเปน ฝรั่งเศส ตุรกี เยอรมนี อิหร่าน และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อินเดีย (นิจศิริและพยอม, 2534) ส่วนที่นิยมนำมาใช้ได้แก่ ราก ต้น ดอก และเกสรตัวเมีย สารสำคัญที่พบในหญ้าฝรั่นจะประกอบด้วยสารโครซิน (crocin) ร้อยละ 2 ซึ่งเป็นสารที่ทำให้หญ้าฝรั่นมีสี และมีสารพิโครโครซิน (picrocrocin) ร้อยละ 2 ทำให้หญ้าฝรั่นมีรสขมและกลิ่นหอม นอกจากนี้ ส่วนต่างๆ ของหญ้าฝรั่นยังมีประโยชน์มากมาย รากแก้ไข้ แก้บิด บำรุงกระเพาะอาหาร บำรุงธาตุ ขับปัสสาวะ ต้นบำรุงหัวใจ แก้อ่อนเพลีย เป็นยาบำรุงโลหิต ดอกแก้ไข้ ชูกำลัง แก้เส้นกระตุก เกสรตัวเมียเป็นยาขับเหงื่อ ใช้แต่งกลิ่นและสีในอาหารหรือเครื่องดื่มและเหล้า รวมทั้งลูกกวาดและขนม ทั้งต้นใช้เป็นยาขับเหงื่อ ขับระดู แก้อาการเกร็ง และขับเสมหะ (เสริมสิริ และคณะ, 2541)

2.2.15 อัญชัน

อัญชันมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Clitor ternatea* L. เป็นไม้เลื้อยที่จัดอยู่ในวงศ์ Papilionaceae (รูปที่ 2.15) ในทางการแพทย์แผนไทยนำเอาส่วนต่างๆ ของอัญชันมาใช้ประโยชน์ทางการรักษา เช่น เมล็ดใช้เป็นยาระบาย รากใช้ขับปัสสาวะ เป็นยาระบาย ทำยาสีฟันทำให้ฟันแข็งแรง แก้ปวดฟัน มีรายงานการวิจัยว่าเมื่อให้สารสกัดเมทานอลจากส่วนเหนือดินของต้นอัญชันแก่หนูทดลองทั้งหนูแรทและหนูไมส์ จากนั้นทำการศึกษาพฤติกรรมที่เกิดขึ้นจากสารสื่อประสาทต่างๆ ภายในระบบประสาทส่วนกลาง ได้แก่ โดพามีน (dopamine) นอร์อะดรีนาลีน (noradrenaline) แอโรโทนิน (aerotonin) และอะซิทิลโคลีน (acetylcholine) พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์นูโทรปิกส์ (nootropics) คลายอาการกังวล ต้านอาการซึมเศร้า ต้านอาการชัก และต้านความเครียด เมื่อให้สารสกัดจากรากอัญชันแก่หนูแรททางปาก พบว่าฤทธิ์ส่งเสริมความจำ (ชาญชัย, 2555)

รูปที่ 2.11 สมอไทย

ที่มา: http://www.ajareeherb.com/2010-06-10-03-39-49/2010-07-12-09-11-59.html (19 ส.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.12 สัตตบงกช

ที่มา: http://www.gotoknow.org/posts/511271 (15 มี.ค. 2557)

รูปที่ 2.13 สีเสียดเทศ

ที่มา: http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=138 (20 ส.ค. 2556)

รูปที่ 2.14 หญ้าฝรั่น

ที่มา: http://www.therichest.com/most-expensive/the-worlds-ten-most-expensive-flowers/ (20 ส.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.15 อัญชัน

ที่มา: http://www.oknation.net/blog/print.php?id=604636 (20 ส.ค. 2556)

2.3 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในสมุนไพร

องค์ประกอบทางเคมีที่พบในสมุนไพรมีความแตกต่างกันไปตามชนิดและส่วนต่างๆของสมุนไพร การทราบองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญนอกจากช่วยให้สามารถนำสมุนไพรมาพัฒนาเพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมแล้วยังสามารถใช้เป็นแนวทางในการกำหนดวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญได้อีกด้วย องค์ประกอบทางเคมีที่พบมากมีดังนี้ (จิรานุช, 2556)

ก) **สเตียรอยด์ (Steroids)** เป็นสารที่มีสูตรโครงสร้างเดียวกับฮอร์โมนและยาต้านอักเสบ สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนและยาต้านอักเสบ เช่น บีต้า-ซิสโทสเตียรอล (ß-sitosterol)

ข) **เทอร์ปีนอยด์ (Terpenoids)** เป็นสารที่พบในพืชแทบทุกชนิด แบ่งออกเป็นโมโนเทอร์ปีนอยด์ (monoterpenoids) ไดเทอร์ปีนอยด์ (diterpenoids) ไตรเทอร์ปีนอยด์ (triterpenoids) เตตระเทอร์ปีนอยด์(tetraterpenoids) และแคโรเทอร์ปีนอยด์ (carotenoids) ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ ได้แก่ เมนทอล (menthol)

ค) **กลัยโคไซด์ (Glycosides)** เป็นสารประกอบที่มี 2 ส่วน คือส่วนที่เป็นน้ำตาล (glycine) และส่วนที่ไม่เป็นน้ำตาล (aglycone) กลัยโคไซด์หลายชนิดมีประโยชน์ทางยาโดยเฉพาะคาร์ดิแอคไกลโคซิเดส (cardiac glycosides) มีฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อหัวใจ โดยเพิ่มแรงบีบตัว ใช้ในการรักษาโรคหัวใจวาย (congestive heart failure) เช่น ไดไกทอกซิน (digitoxin) ไดโกซิน (digoxin)

ง) **แอลคาลอยด์ (Alkaloids)** เป็นสารที่มีรสขม มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(heterocyclic nitrogen) มีคุณสมบัติเป็นด่าง มีฤทธิ์เป็นทางเภสัชวิทยาอย่างเด่นชัด ได้แก่ quinine strychnine และ morphine

จ) **ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)** เป็นสารประกอบพวกโพลีฟีนอล จัดเป็นกลุ่มสารที่มีสี มักมีสีเหลือง แดง ม่วงหรือน้ำเงิน มักพบในรูปไกลโคซิเดส (glycosides) เช่น รูทีน (rutin) ใช้เป็นยารักษาโรคเส้นเลือดฝอยเปราะ ส่วนสารประกอบไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoids) บางชนิดพบว่ามีฤทธิ์คล้ายเอสโทรเจน (estrogen)

ฉ) **แทนนิน (Tannins)** เป็นสารประกอบโพลีฟีนอล มีรสฝาด ใช้เป็นยาฝาดสมานและรักษาอาการท้องร่วง นอกจากนี้ยังใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง

ช) **น้ำมันระเหยง่าย (Volatile oils)** เป็นของเหลวที่มีกลิ่นเฉพาะ มักมีกลิ่นหอมระเหยที่อุณหภูมิห้อง ประกอบด้วยสารเคมีที่สำคัญประเภท monoterpenes sesquiterpenes และ oxyginated derivatives เช่น น้ำมันสะระแหน่ (peppermint oil) ใช้เป็นยาขับลม บำบัดอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ น้ำมันกานพลู (clove oil) ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อ (antiseptic) และเป็นยาชาเฉพาะที่บรรเทาอาการปวดฟัน เป็นต้น

ซ) **สารอื่นๆ** เช่น coumarins amino acids carbohydrates resins oleoresins balsams gum mucilages เป็นต้น

2.4 ไวน์

การผลิตไวน์มีความสำคัญทางเศรษฐกิจไม่เพียงแต่จะมีความสำคัญในประเทศดั้งเดิมของโลกเก่า เช่น ฝรั่งเศสและเยอรมันนี แต่รวมถึงประเทศของโลกใหม่ เช่น ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา และอาร์เจนตินา การผลิตไวน์ยังเพิ่มขึ้นในสหราชอาณาจักร (Varnam และ Sutherland, 1994)

ไวน์อาจจะทำได้จากผลไม้ชนิดใดก็ได้ที่มีส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ในปริมาณที่เพียงพอ องุ่น (*Visit vinifera* หรือ *V. rotundifolia*) มีความสำคัญในเชิงพาณิชย์อย่างมาก ถึงแม้ว่าผลไม้ชนิดอื่น เช่น สตรอเบอร์รี่ กูสเบอร์รี่ (gooseberry) และพีช (peach) สามารถนำมาใช้ทำไวน์ได้ก็ตาม เครื่องดื่มไซเดอร์ (cider) ที่ได้จากการหมักแอปเปิลตามกฎหมายไม่ใช่ไวน์แต่มีเทคโนโลยีการผลิตที่คล้ายกันและเกี่ยวข้องกัน (Varnam และ Sutherland, 1994)

2.4.1 การผลิตน้ำหมักไวน์

องุ่นหลายสายพันธุ์ได้ถูกนำมาใช้ในการทำไวน์เชิงพาณิชย์ประเภทขององุ่นรวมทั้งปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของดินและสภาพภูมิอากาศเป็นสิ่งสำคัญในการกำหนดลักษณะของไวน์ที่เสร็จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมบูรณ์แล้ว รสชาติของไวน์ที่มาจากองุ่นซึ่งมีความหลากหลายและผสมกับกลิ่นรสที่เกิดขึ้นระหว่างขั้นตอนการทำไวน์นั้นเป็นสิ่งที่ตัดสินคุณลักษณะโดยรวมของไวน์ ในประเทศที่มีการผลิตไวน์แบบดั้งเดิม เช่น ผรั่งเศส จะมีการควบคุมสายพันธุ์ขององุ่นที่ใช้สำหรับทำไวน์ชนิดพิเศษแต่ละชนิด แม้ว่าการควบคุมดังกล่าวจะทำหน้าปกป้องเอกลักษณ์ของไวน์ในภูมิภาคนั้นๆแต่ก็เป็นการห้ามไม่ให้มีนวัตกรรมใหม่และความพยายามที่จะพัฒนาคุณภาพของไวน์ที่ผลิตในที่อื่นๆ การควบคุมในลักษณะนี้ไม่เป็นที่ยอมรับในประเทศที่ไม่ใช่แบบดั้งเดิมอย่างเช่นสหรัฐอเมริกาและออสเตรเลีย (Varnam และ Sutherland, 1994)

2.4.2 กระบวนการหมัก

ก) คุณสมบัติของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

คุณสมบัติโดยทั่วไปของ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ใช้ในการทำไวน์เป็นเช่นเดียวกับยีสต์สายพันธุ์ที่ใช้ในโรงงานผลิตเบียร์ ยีสต์สายพันธุ์ที่มีความสำคัญในการผลิตไวน์แตกต่างจากยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์ ยีสต์ที่ใช้ในการหมักได้รับความสนใจในการนำมาพัฒนาศักยภาพของตลอดจนการปรับปรุงด้านพันธุวิศวกรรม (Varnam และ Sutherland, 1994)

ข) จุลลินทรีย์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก

ในการปฏิบัติแบบดั้งเดิมของยุโรป กระบวนการหมักอาศัยการมีอยู่ของยีสต์ตามธรรมชาติในน้ำหมัก ในขั้นต้นเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ยังไม่มีความสำคัญมากนัก เชื้อที่เจริญในขณะนั้นคือ *Aureobasidium pullulans, Candida stellate, Hanseniaspora uvarum, Isatchenkia orientalis, Kloeckera javanica, Metschnikowia pulcherrima* และ *Pichia aniomala* ลักษณะภูมิศาสตร์ของที่ตั้งไร่องุ่นมีอิทธิพลต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่สภาพภูมิอากาศระหว่างการเจริญเติบโตของต้นองุ่นมีผลกระทบต่อเชื้อยีสต์ประจำถิ่นที่มีในไร่องุ่นนั้น (Varnam และ Sutherland, 1994)

การเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ลงในน้ำหมักลดจำนวนยีสต์ทั้งหมดที่เกิดขึ้น การใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ยังส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงเชิงคุณภาพของยีสต์และรสชาติ ช่วยส่งเสริม *S. cerevisiae* และ *S. ludwigii* (Varnam และ Sutherland, 1994)

Saccharomyces cerevisiae แรกเริ่มเป็นเชื้อที่ได้จากอุปกรณ์ในโรงงานผลิตไวน์ และโดยทั่วไปยีสต์ชนิดนี้เจริญในขณะที่มีกระบวนการหมักกำลังดำเนินต่อไป ปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้นจะยับยั้งการเจริญของยีสต์จำนวนมากที่มีอยู่ รูปแบบการเจริญของจุลินทรีย์และชนิดของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์ที่เจริญเด่นอาจเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในขณะหมัก ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส *Saccharomyces exiguous* และ *Zygosacharomyces bailii* อาจเจริญได้ดี แต่ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส *S. cerevisiae* จะเจริญได้ดีแต่ *K. apiculata, C. stellate* และ *C. krusei* ก็เป็นยีสต์ที่จะมีอยู่จำนวนมากด้วย ในอุดมคติขั้นแรกของกระบวนการหมักไวน์แดงควรหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน ส่วนไวน์ขาวควรเริ่มต้นหมักที่อุณหภูมิ 7-21 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ถึงหลายสัปดาห์ (Varnam และ Sutherland, 1994)

ปัจจุบันมักจะเติมเชื้อบริสุทธิ์ลงไปในช่วงเริ่มต้นของการหมักไวน์ซึ่งมีการใช้เชื้อบริสุทธิ์กันมากขึ้น ในโรงงานไวน์ขนาดใหญ่บางแห่งจะทำการขยายปริมาณยีสต์จาก master cultures แต่การใช้กล้าเชื้อแบบเหลวหรือแบบแห้งมีความสะดวกมากขึ้น การใช้กล้าเชื้อแห้งซึ่งสามารถใช้เติมลงในถังหมักได้โดยตรงโดยไม่ต้องขยายปริมาณเหมาะสำหรับโรงงานไวน์ขนาดเล็ก การใช้เชื้อบริสุทธิ์ของ *S. cerevisiae* ได้รับการยอมรับโดยทั่วไปเพื่อลดปัญหาในการควบคุมการหมักและเพื่อผลิตไวน์ที่มีคุณภาพสม่ำเสมอมากขึ้นนอกเหนือจากนี้ *S. cerevisiae* ไม่ได้ส่งผลกระทบต่อการมีอยู่ของยีสต์ธรรมชาติและไม่ได้ส่งผลกระทบต่อรูปแบบของการหมักเป็นที่ปรากฏว่าคุณลักษณะของการหมักตามธรรมชาติ แต่ละขั้นตอนขึ้นอยู่กับการเจริญขึ้นของยีสต์หรือการพัฒนาของยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ต่างกันในระหว่างหมักและผลที่เกิดขึ้นจากการเติมเชื้อบริสุทธิ์มีอิทธิพลต่อการพัฒนาของ *S. cerevisiae* มากกว่าที่จะยับยั้งยีสต์ที่ไม่ใช่ *Saccharomyces* จนกระทั่งเมื่อเร็วๆ นี้มีข้อมูลเพียงเล็กน้อยเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของประชากรของเชื้อ *S. cerevisiae* ที่เติมลงไปหรือบทบาทที่แท้จริงของยีสต์สายพันธุ์ธรรมชาติ ปัจจุบันมีการใช้วิธีการทางชีววิทยาระดับโมเลกุลรวมทั้งการวิเคราะห์ mitochondrial DNA restriction ในการศึกษากระบวนการหมักทั้งแบบที่มีการเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ และแบบที่ปล่อยให้เกิดการหมักเองตามธรรมชาติซึ่งได้มีการแสดงให้เห็นว่ากล้าเชื้อยีสต์ที่เติมลงไปมีบทบาทในการทำให้เกิดการหมักในช่วงแรกและไปมีการยับยั้งเชื้อที่เจริญขึ้นในช่วงต้นของการหมักยังมีความหลากหลายของสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ถึงแม้ว่าจะมีจุลินทรีย์เพียงไม่มีชนิดที่ยังคงมีอยู่ตลอดกระบวนการการหมักโดยจุลินทรีย์ สายพันธุ์เดียวกันมีแนวโน้มที่จะเจริญโดดเด่นทั้งในการหมักแบบธรรมชาติและการหมักแบบที่เติมเชื้อจุลินทรีย์ลงไป (Varnam และ Sutherland, 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แม้ว่าคุณภาพโดยทั่วไปของไวน์ที่หมักโดยกล้าเชื้อบริสุทธิ์จะมีคุณภาพสูงกว่าแต่ก็พบว่าคุณลักษณะพิเศษของจุลินทรีย์ธรรมชาติอาจสูญหายไปและการประเมินผลซ้ำอีกครั้งก็ได้แสดงให้เห็นว่ายีสต์บางชนิดที่มีความสามารถในการทำให้เกิดการหมัก ตัวอย่างเช่น *K. apiculata* เป็นยีสต์ที่ผลิตสารประกอบที่ให้กลิ่นหอมและระเหยได้ในปริมาณมาก สารที่ระเหยได้ในปริมาณที่มีนัยสำคัญก็คงถูกผลิตขึ้นโดย *S. cerevisiae* บางสายพันธุ์ ส่วนสายพันธุ์อื่นมีประสิทธิภาพน้อยกว่า อย่างไรก็ตามมีการแนะนำว่าการเลือกใช้สายพันธุ์ของ *S. cerevisiae* อาจส่งผลให้ไวน์ที่มีคุณภาพต่ำ ควรใช้กล้าเชื้อผสมซึ่งมียีสต์ที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารประกอบให้กลิ่นซึ่งระเหยได้ (Varnam และ Sutherland, 1994)

เชื้อราและแบคทีเรียกรดแลคติกเป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญที่สุดนอกเหนือจากยีสต์ที่มีอยู่ในช่วงเริ่มต้นของกระบวนการการหมักโดยเชื้อราจะตายในช่วงแรก ขณะที่แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกไม่สามารถเจริญแข่งขันได้อย่างมีประสิทธิภาพในการหมักน้ำตาล โดยจะลดจำนวนลงในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ แต่เพิ่มจำนวนขึ้นในระหว่างหมักมาโลแลคติก (malo-lactic) ในขั้นตอนต่อไป (Varnam และ Sutherland, 1994)

ค) เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ระหว่างการหมัก

แม้ว่าเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* แบ่งตัวอย่างรวดเร็วในช่วงการเจริญเติบโตแบบเอ็กโปแนนเชียล เซลล์ที่ไม่มีการเติบโตมีหน้าที่ในการหมักแอลกอฮอล์ ปัญหาอาจเกิดขึ้นได้โดยเฉพาะในการหมักแบบธรรมชาติ โดยเกิดการตายก่อนเวลาของเซลล์เนื่องจากการที่ไม่สามารถทนเอทานอลหรือผลิตภัณฑ์จากการหมักได้ ความไม่สามารถทนต่อเอทานอลนี้ทางสรีรวิทยาของยีสต์และอาจจะป้องกันได้โดยเติมสเทอรอลซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนที่สามารถดูดซึมได้ง่าย เช่น เกลือแอมโมเนียม หรืออาจจะใช้ร่วมกับไทอามิน หรือผนังเซลล์ของยีสต์ลงในน้ำหมักในช่วงแรกของการหมักมีสารกระตุ้น (activators) ที่มีผู้ผลิตขึ้นจำหน่าย การนำมาใช้รวมกับวิธีอื่นเพื่อที่จะหลีกเลี่ยงการตายก่อนเวลาของเชื้อ ตัวอย่างเช่น ตัวกระตุ้นทางชีวภาพ Bioactivator DC™ คือของผสมระหว่างเกลือแอมโมเนียมและไทอามีนกับผนังเซลล์ยีสต์ และสารประกอบเชิงซ้อนของโพลีแซคคาไรด์ซึ่งจะดูดซับผลิตภัณฑ์จากการหมักที่เป็นสารยับยั้งโพลีแซคคาไรด์ยังช่วยจับฟองอากาศซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีประสิทธิภาพที่จะให้ออกซิเจนในน้ำหมัก วิธีการนี้ได้ถูกใช้อย่างสำเร็จในแคลิฟอเนีย ก่อนหน้านี้มีการนำยูเรียมาใช้เป็นตัวกระตุ้นกันอย่างกว้างขวางมากแต่ปัจจุบันทราบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ว่าสารนี้เป็น precursor ของสารก่อมะเร็งที่ชื่อว่า เอทิลคาร์บาเมต (Varnam และ Sutherland, 1994)

ง) การออกแบบถังหมัก

แต่เดิมได้มีการใช้ถังหมักไม้แบบเปิดแต่ถังหมักแบบเก่าถูกแทนที่ด้วยถังหมักระบบปิดที่ทำด้วยสแตนเลสหรือไฟเบอร์กลาส (fibreglass) ที่อาจเป็นรูปทรงกระบอกแนวนอนหรือแนวตั้ง ถังหมักที่ทันสมัยอาจจะมีคอยด์หล่อเย็น (cooling coil) หรือวอลเพแนล (wall panel) และรวมถึงสิ่งที่จำเป็นสำหรับการทำความสะอาดแบบไม่ต้องถอดอุปกรณ์ออก (cleaning-in-place) ระบบหมักแบบต่อเนื่องได้ถูกพัฒนาขึ้นสำหรับทำไวน์แต่ปรากฏว่ายังไม่ประสบความสำเร็จอย่างสมบูรณ์ (Varnam และ Sutherland, 1994)

2.4.3 การบ่มไวน์ (maturation of wine)

ในขั้นต้นจะเกิดขึ้นในถังหมักโดยเฉพาะในอุตสาหกรรมการผลิตขนาดใหญ่ เช่น ในถังหมักขนาดใหญ่ ระยะเวลาของการหมักจนได้ที่ผันแปรแตกต่างกันไป และจะใช้เพียงเวลาสั้นมากในกรณีของไวน์ที่หมักเพียงระยะสั้นๆ (young wine) เช่น *Beaujolais nouveau* ซึ่งมีรสของผลไม้ที่มาจากองุ่น โดยทั่วไปไวน์ขาวจะได้ที่เมื่อหมักเป็นเวลา 6 เดือน ในกรณีของไวน์ที่หมักในระยะสั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงที่เป็นประโยชน์ต่อไปอีกเล็กน้อย หลังจากการบรรจุขวดไวน์จะพร้อมสำหรับการบริโภคทันที อย่างไรก็ตามการบ่ม (maturation) จะดำเนินต่อไปหลังบรรจุขวดและอาจจะใช้เวลาหลายปีก่อนที่ไวน์จะอยู่ในสภาวะที่เหมาะสม (Varnam และ Sutherland, 1994)

2.4.4 การกรอง การทำให้ใส และการบรรจุขวด

ก) การกรองและทำให้ใส

การกรองไวน์อาจทำได้หลายขั้นตอนระหว่างการผลิต ซึ่งทำได้ตั้งแต่การกรองอย่างหยาบไปจนถึงการฆ่าเชื้ออย่างเต็มรูปแบบ แม้ว่าความต้องการที่ซับซ้อนมากของไวน์นำไปสู่การพัฒนาวัสดุที่ใช้ในการกรองแบบใหม่ซึ่งรวมถึงการใช้เส้นใยเซลลูโลส (cellulose fibrils) เพียงอย่างเดียวหรือการใช้เส้นใยเซลลูโลสร่วมกับไดอะตอมมาเซียสเอิร์ท (diatomaceous earth) (Varnam และ Sutherland, 1994)

ข) การบรรจุขวด

หลังจากการกรองและการทำให้ใสจะเก็บไวน์ไว้ในถังเก็บรักษาก่อนการบรรจุขวด ในกรณีของไวน์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยวิธีการกรอง (filtered sterilized wine) การกรองครั้งสุดท้ายมักจะทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก่อนการบรรจุไวน์ในขวด บางครั้งจะใช้ก๊าซเฉื่อย (ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือก๊าซไนโตรเจน) เพื่อป้องกันไวน์จากการออกซิเดชัน นอกจากนี้อาจมีการเติมสารเจือปนบางชนิดก่อนการบรรจุขวด เพื่อป้องกันการเสื่อมสลายของไวน์โดยจุลินทรีย์และการเสื่อมสภาพทางเคมีโดยมักจะมีการเติมสารยับยั้งจุลินทรีย์ลงไป สารที่มักใช้กันมากที่สุดคือซัลเฟอร์ไดออกไซด์และกรดซอร์บิก (sorbic acid) ยังสามารถลดความเป็นกรดของไวน์ก่อนทำการบรรจุลงในขวดโดยการเติมเกลือ โดยปกติจะใช้โพแทสเซียมไบคาร์บอเนตและแคลซียมคราร์บอเนต (Varnam และ Sutherland, 1994)

2.4.5 การหมักมาโลแลคติก

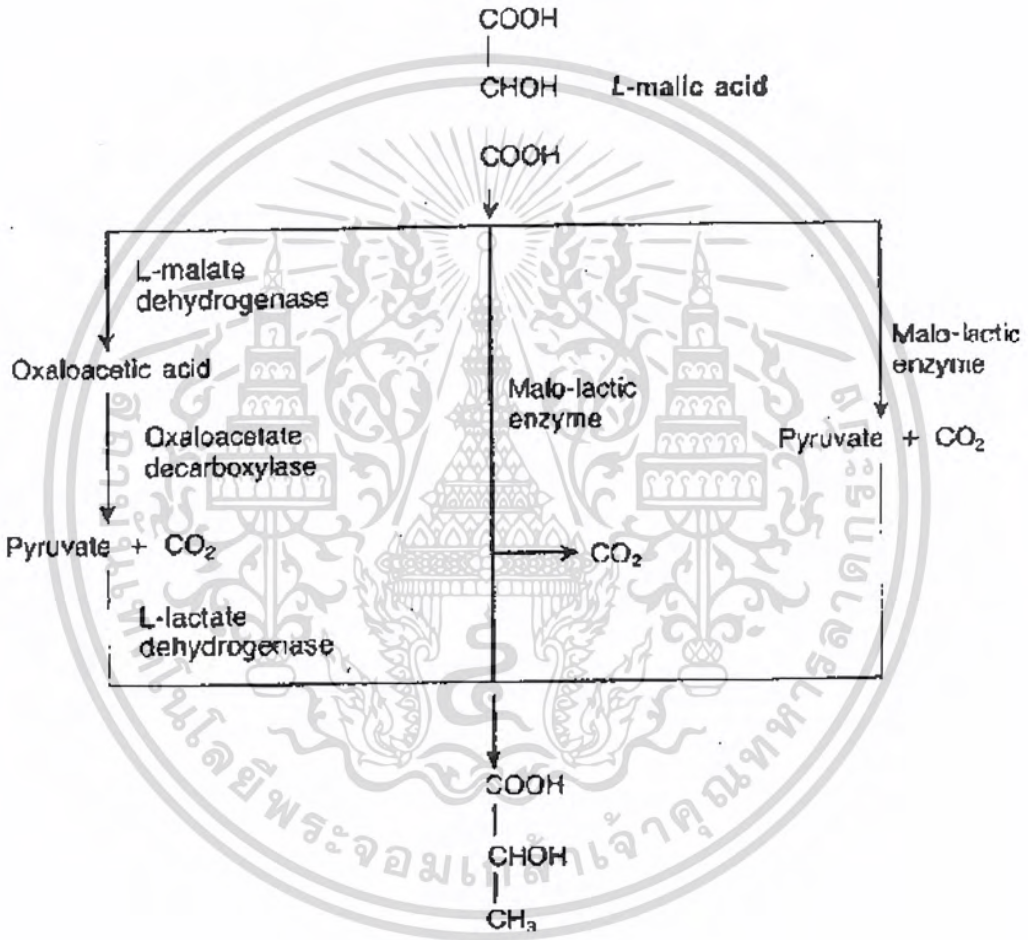
การหมักมาโลแลคติก (malo-lactic fermentation) เกี่ยวของกับการดึงหมู่คาร์บอกซิลออกจากกรดมาลิกเป็นกรดแลคติกโดยอาศัยแบคทีเรียกรดแลคติก *Leuconostoc oenos* (รูปที่ 2.16) เป็นเชื้อหนึ่งที่มีส่วนเกี่ยวข้องบ่อยที่สุดแต่บางสายพันธุ์ของเชื้อ *Lactobacillus* และ *Pediococcus* ก็มีความสามารถในการทำปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงนี้ในไวน์ส่วนใหญ่ การหมักมาโลแลคติกเกิดขึ้นถัดจากการหมักแอลกอฮอล์ (Varnam และ Sutherland, 1994)

กรดแลคติกเป็นกรดอ่อนกว่ากรดมาลิกและผลที่เกิดขึ้นหลักๆ ของการหมักมาโลแลคติกคือการทำให้ไวน์มีสภาพไม่เป็นกรดซึ่งจะเกิดขึ้นมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับสัดส่วนของกรดมาลิกและกรดทาร์ทาริกที่มีอยู่ในองุ่น การขจัดกรดมาลิคออกทำให้ลดความเป็นไปได้ของการเน่าเสียโดยแบคทีเรีย ขณะที่การหมักมาโลแลคติกช่วยเพิ่มคุณสมบัติของไวน์ การหมักมาโลแลคติกเป็นสิ่งที่ต้องการในระหว่างการผลิตไวน์แดงที่มีกรดสูง เช่น ไวน์ของอิตาลี แบบ Piedmontese แต่ไม่เป็นที่ต้องการในไวน์ขาว เนื่องจากปริมาณกรดจะส่งผลให้กลิ่นและรสเปลี่ยนไป ยกเว้นไวน์ที่ได้จากหมักจากน้ำองุ่นชาร์โดเนย์ (chardonnay juice) เนื่องจากความเป็นกรดจะลดลงโดยวิธีการทางเคมี (Varnam และ Sutherland, 1994)

เทคนิคการผลิตไวน์สามารถถูกควบคุมได้เพื่อให้มีการชักนำหรือการยับยั้งการสร้างกลิ่นรสที่เกิดจากการหมักมาโลแลคติกได้ตามต้องการ แต่บ่อยครั้งยากที่จะทำให้เกิดสิ่งที่ต้องการและยากที่จะยับยั้งไม่ให้เกิดสิ่งที่ไม่ต้องการได้มีความสำเร็จบ้างจากการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ของ *Leuconostoc* เพื่อเริ่มต้นการหมักมาโลแลคติกและลดปัญหาด้านคุณภาพที่เกี่ยวของกับแบคทีเรียกรดแลคติกบางชนิด การใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับ bacteriophage ขณะที่ความเหมาะสมของสายพันธุ์ของเชื้อเองก็จะแตกต่างกันออกไปตามธรรมชาติของไวน์แต่ละชนิด ปัญหาของการใช้กล้าเชื้อของ *Leuconostoc* ยังไม่ถูกแก้ไขทั้งหมดเนื่องมาจากเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประจำถิ่นและได้มีการเสนอให้ใช้ไนซิน (nisin) ในการควบคุมสายพันธุ์ของแบคทีเรีย กรดแลคติกเหล่านั้นจึงจำเป็นจะต้องมีการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ทนต่อไนซินได้ การตรึงเซลล์เป็นทางเลือกที่มีประสิทธิภาพของการปรับปรุงความคงตัวและประสิทธิภาพของการหมักมาโลแลคติกแต่จำเป็นที่ต้องทำงานต่อไปก่อนที่จะมีความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้ระดับอุตสาหกรรม (Varnam และ Sutherland, 1994)



รูป 2.16 กระบวนการหมักมาโลแลคติก

ที่มา: Varnam และ Sutherland (1994)

ได้มีความพยายามที่จะปรับปรุงด้านพันธุกรรมของ *S. cerevisiae* โดยการนำยีนมาโลแลคติก (malo-lactic gene) มาใส่และได้ประสบสำเร็จในการถ่ายยีนมาโลแลคติกของเชื้อ *L. delbrueckii* ไปยังเชื้อ *S. cerevisiae* แต่การแสดงออกของยีนนั้นแสดงออกมาอย่างจำกัดซึ่งการประยุกต์ใช้ในทางปฏิบัติของขั้นตอนนี้นั้นยังไม่สามารถทำได้ (Varnam และ Sutherland, 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 สารสำคัญที่พบในองุ่นและไวน์

2.5.1 ฟลาวานอล ฟลาโวนอล และไดไฮโดรฟลาโวนอล

สารประกอบฟลาวานอล (flavanol) ฟลาโวนอล (flavonols) และไดไฮโดรฟลาโวนอล (dihydroflavonols) อยู่ในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สารประกอบเหล่านี้เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่ใช้โครงสร้าง C_6-C_3-C_6 เหมือนๆ กัน โครงสร้างโดยทั่วไปประกอบด้วยวงฟีนอลิก 2 วง คือ phenolic ring A และ phenolic ring B ซึ่งเชื่อมต่อกันโดยแหวนไพแรน (Pyran ring หรือ C-ring) ตามที่แสดงในรูปที่ 1 ในจำนวนนี้มีหลายคลาสที่สามารถแยกความแตกต่างโดยอาศัยสถานะออกซิเดชัน (oxidation state) ของ C-ring ฟลาโวนอยด์อาศัยโครงสร้างของ 2-phenylbenzopyrone ที่เชื่อมโดยพันธะที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 และหมู่คีโตนในคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 สารเหล่านี้มีอยู่ในองุ่นในรูปของฟลาโวนอลซึ่งก็มีหมู่ไฮดรอกซิลในคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ด้วย ในขณะที่ฟลาโวน (flavones) ก็มีอยู่ในใบองุ่นด้วย สารที่จัดเป็นฟลาโวนอยด์ยังมีอีกหลายคลาสที่ไม่แสดงคุณลักษณะเหล่านี้ออกมา ในบรรดาสารประกอบเหล่านี้แอนโธไซยานิน (anthocyanin) ฟลาโวนอลและไดไฮโดรฟลาโวนอลจะพบได้ในองุ่น โดยแอนโธไซยานินและฟลาวานอลพบมากในองุ่นและไวน์และมีอิทธิพลต่อคุณภาพของไวน์ โดยแท้จริงแล้วแอนโธไซยานินเป็นรงควัตถุสีแดงที่มีอยู่ในองุ่น และให้สีในไวน์แดง (red wine) ในขณะที่ฟลาวานอลเป็นสารประกอบที่ให้รสชาติ (โดยเฉพาะรสฝาดและรสขม) และยังเกี่ยวข้องกับการพัฒนาการเกิดปฏิกิริยา oxidative browning ความขุ่นและการเกิดตะกอน (Terrier และคณะ, 2009)

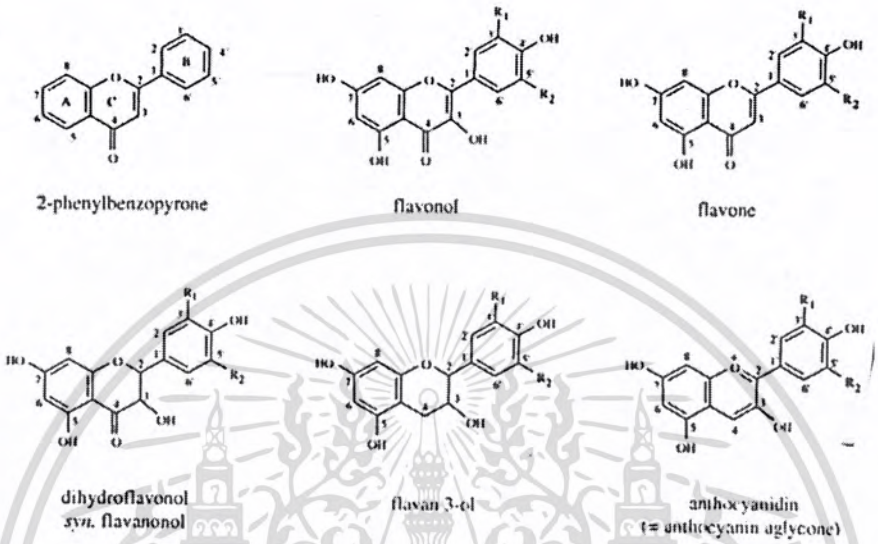
สารฟลาโวนอยด์ในองุ่นเป็นสารประกอบที่มีการเติมหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5 และตำแหน่งที่ 7 ดังนั้น A-ring ของสารประกอบคือ phloroglucinol ring และ B-ring ในคาร์บอนตำแหน่งที่ 4' สารประกอบนี้สามารถถูกเติมหมู่ไฮดรอกซิลได้ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 หรือ 3' และ 5' และจะสามารถถูกแทนที่ด้วยหมู่ไกลโคลซิดิกหรือหมู่เอซิลบนหมู่ alcoholic OH ได้ในตำแหน่งที่ 3 (Terrier และคณะ, 2009)

ก. ฟลาวานอล (flavanols)

ฟลาวานอลในองุ่นควรจะเรียกว่า flavan 3-ols (รูปที่ 2.1) จะถูกต้องกว่าเนื่องจากสารเหล่านี้ถูกเติมหมู่ไฮดรอกซีในตำแหน่งที่สามซึ่งพบในฐานะของโมโนเมอร์ (monomer) แต่ก็ยังพบในรูปของโอลิโกเมอร์ (oligomer) และโพลีเมอร์ (polymer) ด้วย (รูปที่ 2.18)

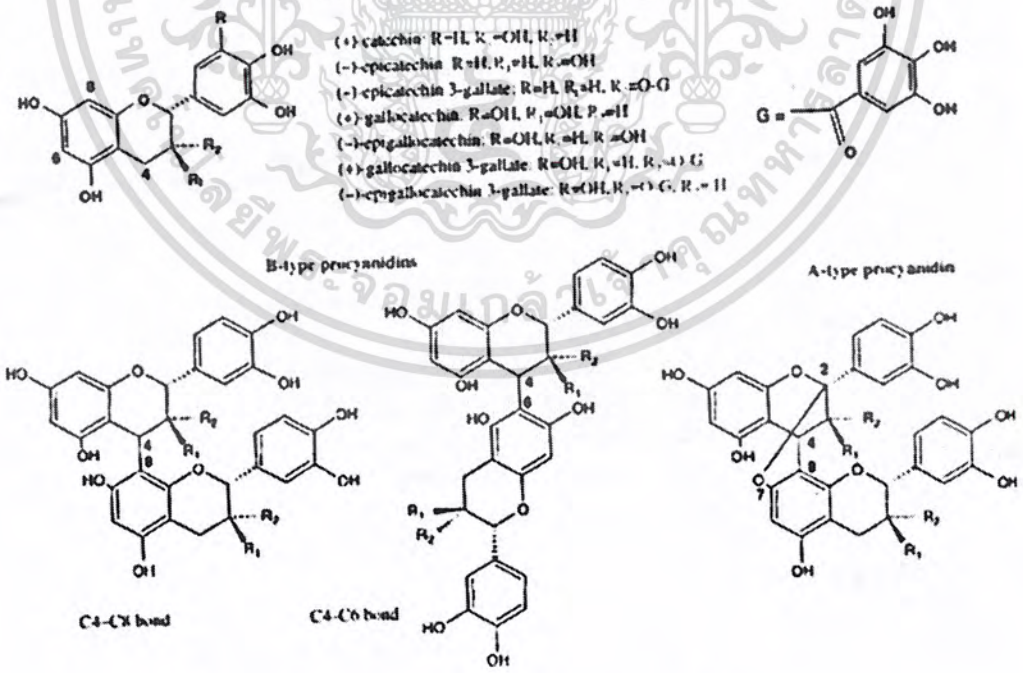
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โมโนเมอร์ของ flavan 3-ols ส่วนใหญ่ที่พบในองุ่นเป็น (+)-catechin และไอโซเมอร์ ของสารนี้ก็คือ (-)-epicatechin และที่พบน้อยคือ gallic ester ของ (-)-epicatechin และ (-)-epicatechin 3-gallate



รูปที่ 2.17 โครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอยด์

ที่มา: Terrier และคณะ (2009)



รูปที่ 2.18 โครงสร้างโมโนเมอร์และไดเมอร์ของฟลาวานอล

ที่มา: Terrier และคณะ (2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้มีการรายงานว่า Gallocatechin ที่พบใน *Vitis viniifera* และ catechin 3-gallate และ gallocatechin 3- gallate ถูกตรวจพบในสายพันธุ์ที่ไม่ใช่ *Vinifera* (Terrier และคณะ, 2009)

ฟลาวานอลที่เป็นไดเมอร์ที่พบในเนื้อองุ่น ได้แก่ (-)-Epicatechin-(4-ß-8)-(+)-catechin(B1) (-)-Epicatechin-(4-ß-8)-(-)-epicatechin(B2) (+)-catechin-(4-ß-8)-(+)-catechin(B3) (+)-catechin-(4-ß-8)-(-)-epicatechin(B4) (-)-Epicatechin-(4ß-8)-(-)-epicatechin 3-gallate(B2 3'gallate) ในเมล็ดขององุ่นพบ (-)-Epicatechin-(4-α-6)-(+)-catechin(B5) (+)-catechin-(4-α-6)-(+)-catechin(B6) (-)-epicatechin-(4-ß-6)-(+)-catechin(B7) (+)-catechin-(4-α-6)-(-)-epicatechin(B8) (-)-Epicatechin 3 gallate-(4ß-8)-(+)-catechin(B1 3-gallate) (-)-Epicatechin 3-gallate-(4-ß-8)-(-)-epiicatechin(B2 3-gallate) ในไวน์พบ (-)-Epigallocatechin-(+)-catechin (-)-Epicatechin-(+)-gallocatechin (-)-Epicatechin-(+)-epigallocatechin ในก้านองุ่นพบ (-)-Epicatechin-(4ß-8)-(-)-epicatechin 3-gallate (B2 3'gallate) (Terrier และคณะ, 2009)

ฟลาวานอลที่เป็นไตรเมอร์ที่พบในเมล็ดองุ่น ได้แก่ (-)-Epicatechin-(4-ß-8)-(-)-epicatechin-(4-ß-6)-(+)-catechin (-)-Epicatechin-(4-ß-6)-(-)-epicatechin(4-ß-8)-(-)-epicatechin (-)-Epicatechin-(4-ß-6)-(-)-epicatechin(4-ß-8)-(+)-catechin (-)-Epicatechin-(4-ß-8)-(-)-epi-catechin 3-gallate-(4-ß-8)-(+)-catechin (-)-Epicatechin-(4-ß-8)-(-)-epicatechin-3-gallate-(4-ß-8)-(+)-catechin และที่มีอยู่ในไวน์ได้แก่ (-)-Epicatechin-(4-ß-8)-(-)-epi- catechin (4-ß-8)-(-)-epicatechin (C1) (-)-Epicatechin-(4- ß -8)-(-)-epicatechin (4-ß -8)-(+)- catechin (Terrier และคณะ, 2009)

ฟลาโวนอลที่มีอยู่ในเปลือกองุ่นได้แก่ Quercetin, (R1=OH, R2=H) 3-glucoside Quercetin 3-glucuronide Quacetin 3-glucosylgalactoside Quercetin 3-glucosylxyloside Quercetin 3-rhamnosylglucoside Kampferol (R1=R2=H) 3-glucoside Kampferol 3-glucuronide Kampferol 3-galactoside Kampferol 3-glucosylarabinoside Myricetin (R1=R2=OH) 3-3-glucoside Myricetin 3-glucuronide ที่อยู่ในใบองุ่นได้แก่ Quercetin 3-rhamnosylglucoside (Terrier และคณะ, 2009)

ข. ฟลาโวนอล (flavonols) และ ไดไฮโดรฟลาโวนอล (dihydroflavonols)

ฟลาโวนอลซึ่งมีบทบาทในการป้องกันรังสีอัลตร้าไวโอเลตนั้นพบได้ในผิวและใบขององุ่น ฟลาโวนอยด์บางชนิดถูกตรวจพบในเนื้อองุ่นแต่ไม่พบในเมล็ดองุ่น ฟลาโวนอลชนิดหลักในองุ่นคือ 3-glycosides ของควอซิทินซึ่งจับอยู่กับหมู่ไฮดรอกซี 2 หมู่ บน B-ring โดยเฉพาะอย่างยิ่ง

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3-glucosides และ 3-glucuronide ของสารนี้ส่วนฟลาโวนอลตัวอื่นๆ และไดไฮโดรฟลาโวนอลชนิดอื่นๆได้ถูกจำแนกชนิดในส่วนอื่นๆของพืช (Terrier และคณะ, 2009)

2.5.1.1 การสกัดสารลงในไวน์

องค์ประกอบของฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในไวน์ไม่ได้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบขององุ่นเพียงอย่างเดียว แต่ยังขึ้นอยู่กับกระบวนการสกัดและปฏิกิริยาในขั้นต่อไประหว่างกระบวนการผลิตไปจนถึงกระบวนการในการบ่มไวน์อีกด้วย ดังนั้นไวน์ขาวที่ได้จากการบีบอัดโดยตรงซึ่งมีการสัมผัสกับเปลือกน้อย ฟลาโวนอยด์ส่วนใหญ่มาจากเนื้อองุ่น ในส่วนเทคโนโลยีในการผลิตไวน์แดง กระบวนการนี้ใช้สกัดแอนโธไซยานินจากเปลือกองุ่นก็มีผลช่วยเพิ่มสารสกัดฟลาโวนอยด์ชนิดอื่นออกจากเปลือกองุ่น เมล็ดและก้านหรือใบขององุ่น ที่มีอยู่ในถังหมัก การสกัดดำเนินต่อไปจนกระทั่งแยกสิ่งตกค้างที่เป็นของแข็ง (marc or pomace) ออกจากไวน์โดยการ racking หรือการบีบอัด จนศาสตร์ของสารขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของสารและความสามารถในการเข้าถึงภายในเนื้อเยื่อองุ่น ซึ่งสามารถควบคุมโดยปัจจัยทางสรีระวิทยา เช่น ขั้นตอนในการแก่ (maturation stage) สิ่งนี้มีอิทธิพลต่อปัจจัยด้านเทคโนโลยีต่อไป ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในส่วนของของเหลว อุณหภูมิและการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันดังนั้นช่วงเวลาก่อนและหลังการหมัก การกระทำหรือทรีตเมนต์ที่ช่วยส่งเสริมการสลายผนังเซลล์หรือผลองุ่น เช่น การใช้เอนไซม์ย่อยเพคติน (pectinolytic enzymes) ล้วนแต่มีอิทธิพลต่อองค์ประกอบของฟลาโวนอยด์ที่มีอยู่ในไวน์ (Terrier และคณะ, 2009)

ก) ไวน์ขาว

Quercetin 3-glucoronide เป็นฟลาโวนอลชนิดเดียวที่ถูกพบในน้ำผลไม้และไวน์ พร้อมทั้ง kampferol 3-glucoside ใน Riesling wine อีกเล็กน้อย และการบดใบองุ่นผสมลงไปจะทำให้ความเข้มข้นของฟลาโวนอลในไวน์เพิ่มขึ้น (Terrier และคณะ, 2009)

ฟลาวานอลโมโนเมอร์ (flavanol monomer) เคยถูกตรวจพบปริมาณเล็กน้อยในไวน์ขาวที่ทำโดยไม่ผ่านกระบวนการ maceration ความล่าช้าในการเก็บเกี่ยวและการบดองุ่น (โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ลงไปเพื่อช่วยป้องกันการออกซิเดชัน) ส่งผลให้ความเข้มข้นของฟลาโวนอยด์ในไวน์ขาวเพิ่มขึ้น (Terrier และคณะ, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข) ไวน์แดง

ปริมาณสารแอนโธไซยานินเพิ่มขึ้นถึงระดับสูงสุดในระยะแรกๆของการหมัก ในขณะที่การสกัดสารแทนนินเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดช่วงที่มีการสัมผัสกันระหว่างส่วนผสม การติดตามองค์ประกอบของสารฟลาโวนอยด์ในน้ำหมักในระหว่าง maceration ได้แสดงให้เห็นว่าการสกัดสาร ฟลาโวนอลและโปรแอนโธไซยานิดินเกิดควบคู่ไปกับการสกัดสารแอนโธไซยานิน ในขณะที่การสกัดสารฟลาโวนอลจะเกิดขึ้นช้ากว่าการสกัดฟลาโวนอยด์อัตราเริ่มต้นจากเปลือกองุ่น แม้ว่าความเข้มข้นของแอลกอฮอล์สุดท้ายจะต่ำกว่าร้อยละ 6.5 หรือร้อยละ 13 ในขณะที่การสกัดฟลาโวนอยด์จากเมล็ดจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเอทานอล ไม่ว่าจะเนื่องมาจากโครงสร้างทางเคมีหรือไม่ก็ตาม สารโปรไซยานิดินจากเมล็ด (seed procyanidin) มีความชอบน้ำน้อยกว่า ฟลาโวนอยด์ชนิดอื่นๆหรือคุณลักษณะที่แตกต่างอื่นๆของเนื้อเยื่อพืชทั้งสองซึ่งยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด (Terrier และคณะ, 2009)

2.5.2 แอนโทไซยานิน (anthocyanins)

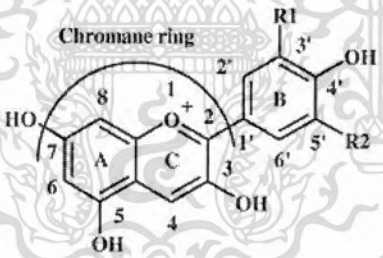
แอนโทไซยานิน (anthocyanins) มีชื่อย่อมาจากรากศัพท์เดิมของกรีกคือ anthos แปลว่า ดอกไม้ และ kyanos แปลว่า สีน้ำเงิน แอนโทไซยานิน จึงหมายถึง ดอกไม้สีน้ำเงิน แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ (water-soluble pigments) จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่าง โดยมีสีน้ำเงินเข้มในสภาวะที่เป็นด่าง (พีเอชมากกว่า 7) มีสีม่วงเมื่อเป็นกลาง (พีเอชเท่ากับ 7) และจะเปลี่ยนเป็นสีแดงส้มในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอชน้อยกว่า 7) สามารถพบแอนโทไซยานินได้ทั่วไปในแวคิวโอลและเซลล์เนื้อเยื่อชั้นนอกของดอก ผล และใบของพืชดอก (angiosperms) ยกเว้นในพืชพวกตะบองเพชร ผักกาดหัว ผักโขมและพืชพวกสาหร่าย บางครั้งปรากฏในส่วนเนื้อเยื่อพืช (plant tissue) ได้แก่ ราก หัวใต้ดินของพืช (tuber) ลำต้น หน่อย่อย (bulbil) และพืชเมล็ดเปลือย (gymnosperms) ต่างๆ เช่น เฟิร์นและไบโอไฟต์ (bryophytes) นอกจากแอนโทไซยานินจะทำให้ดอกไม้มีสีสันสวยงามแล้วยังช่วยป้องกันพืชไม่ให้ได้รับอันตรายจากสิ่งแวดล้อมและแมลงต่างๆ แอนโทไซยานินจากธรรมชาติสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเครื่องดื่ม และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้หลายชนิด แต่ที่ได้รับความสนใจมากในปัจจุบันคือคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) จึงมีแนวโน้มนำมาประยุกต์ใช้ในด้านสุขภาพและความงาม โดยช่วยลดการเกิดริ้วรอยของผิวจากรังสี

เอกสารนี้อาจมีการป้องกันลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัลตร้าไวโอเลตและมลภาวะ อีกทั้งช่วยป้องกันเซลล์เส้นผมไม่ให้อ่อนแอและทำให้เส้นผมเงางามแข็งแรง (Monagas และ Bartolomé, 2009)

2.5.2.1 สารแอนโทไซยานินและสารที่เป็นอนุพันธ์ของสารประกอบแอนโทไซยานินในไวน์

ลักษณะโครงสร้างและการเกิดขึ้น สารแอนโทไซยานินส่วนใหญ่จะอยู่ในผิวขององุ่น ยกเว้นพันธุ์ teinturier ที่มีสารแอนโทไซยานินในเนื้อองุ่น สารแอนโทไซยานินที่อยู่ในผิวองุ่นและไวน์จากองุ่นสายพันธุ์ *Vitis Vinifera* คือ 3-*O*-acylated monoglucosides และ 3-*O*-acylated monoglucosides ของสารแอนโทไซยานินหลักมี 5 ชนิด คือ Delphinidin, Cyanidin, Petunidin, Peonidin และ Malvidin ซึ่งมีความแตกต่างจากชนิดอื่นๆเนื่องจากจำนวนและตำแหน่งของ hydroxyl และ methoxly groups ซึ่งตั้งอยู่ใน B-ring ของโมเลกุล (รูปที่ 2.19) ปฏิกิริยาเอซิลเลชั่นที่ตำแหน่ง C-6 ของโมเลกุลกลูโคสโดยปฏิกิริยาเอสเทอร์ริฟิเคชั่นกับกรดอะซิติก กรดพี-คูมาริก และกรดคาเฟอิค เมื่อเร็ว ๆ นี้ได้รับรายงานว่าอะซิเลตเทตแอนโทไซยานินกับกรดแลคติกที่มีอยู่ในไวน์นั้นมาจากองุ่น (Monagas และ Bartolomé, 2009)



Aglycone	R1	R2	colour	λ_{max} (nm)
Cyanidin (Cy)	OH	H	Red	535
Peonidin (Pn)	OCH3	H	Bluish-purple	532
Pelargonidin (Pg)	H	H	Orange-red	520
Malvidin (Mv)	OCH3	OCH3	Purple	542
Delphinidin (Dp)	OH	OH	Purple	546
Petunidin (Pt)	OCH3	OH	Purple	543

รูปที่ 2.19 โครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานิน

ที่มา: http://origin-ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0308814608000964-gr1.jpg (16 ส.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แม้ว่าเดิมทีมีแนวคิดที่จะนำเสนอเฉพาะในองุ่นสายพันธุ์ *V. vinifera* spp. การใช้เทคนิคการวิเคราะห์ที่ทันสมัยและละเอียดอ่อนมากขึ้นได้รับการยอมรับว่าการเกิดขึ้นของ anthocyanidin-3,5-diglucosides ในสารสกัดจากผิวองุ่นสายพันธุ์ *V. vinifera* และไวน์ เมื่อเร็วๆนี้ 3,7-diglucosides ยังได้รับการเสนอ ท้ายที่สุดได้รับการยืนยันเป็นครั้งแรกสำหรับที่อยู่ของโอลิโกเมอร์ของแอนโธ ไซยานินรวมไปถึง โครงสร้างสามมิติในสารสกัดจากผิวองุ่น โอลิโกเมอร์ของแอนโทไซยานินมีการเชื่อมกันทั้งชนิดเอ (พันธะระหว่างคาร์บอนกับคาร์บอนและพันธะอีเทอร์) หรือชนิดบี (พันธะระหว่างคาร์บอนกับคาร์บอน) (Monagas และ Bartolomé, 2009)

การจำแนกประเภทของไวน์ตามลักษณะสายพันธุ์ขององุ่น การกระจายตัวและความเข้มข้นของสารแอนโทไซยานินขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ การกลายพันธุ์ สภาพภูมิอากาศ พื้นที่ที่ใช้ในการปลูกและปริมาณของผลผลิต โดยทั่วไปแล้ว malvidin เป็นสารแอนโทไซยานินตัวหลักที่อยู่ในองุ่นแดง คิดเป็นสัดส่วนถึงร้อยละ 90 ใน Grenache และน้อยกว่าร้อยละ 50 ใน Sangiovese อย่างไรก็ตาม จำนวนอะซิเลตเทต แอนโทไซยานินได้รับอิทธิพลส่วนใหญ่จากความหลากหลายของพันธุ์องุ่นและอาจจะไม่มีในองุ่นบางชนิดเช่น Pinot Noir รายละเอียดของสารแอนโทไซยานินถูกนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ที่ทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างพันธุ์องุ่น ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นรวมหรือชนิดของ แอนโทไซยานิดินที่แตกต่างกันเป็นผลมาจากสายพันธุ์ ความสัมพันธ์เหล่านี้มีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ flavonoid-3'-hydroxylase และ *O*-dihydroxyphenol-*O*-methyltransferase การจัดหมวดหมู่ความหลากหลายจะขึ้นอยู่กับสัดส่วนของอะซิเลตเทต แอนโทไซยานินกับอะซิติกและกรดพี-คูมาริก ซึ่งเกี่ยวข้องกับสารอะซิติลขององุ่นและกิจกรรมของเอนไซม์ที่มีหน้าที่ในการเคลื่อนย้ายหมู่ซินนาโมอิล ความหลากหลายของพันธุ์องุ่นจะกำหนดการผลิตเอนไซม์แต่ละชนิดเนื่องจากเป็นการแสดงออกโดยตรงของจีโนม (Monagas และ Bartolomé, 2009)

องค์ประกอบของสารแอนโทไซยานินไวน์องุ่นขึ้นอยู่กับองุ่นที่นำมาใช้ผลิตไวน์รวมไปถึงวิธีการและเทคนิคที่ใช้ในการผลิตไวน์ การหมักซึ่งจะช่วยให้การกระจายของสารแอนโทไซยานินและสารประกอบฟีนอลจากส่วนที่เป็นเนื้อองุ่นที่จะสามารถเกิดขึ้นได้ในกระบวนการหมัก หลังจากมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นไปถึงระดับสูงสุดหลังจากเกิดกระบวนการหมัก ความเข้มข้นของสารแอนโทไซยานินจะลดลงเป็นผลมาจากการดูดซับบนผนังเซลล์ของยีสต์ ทำการตกตะกอนในรูปแบบของ

เอกสารนี้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารคอลลอยด์ร่วมกับเกลือทาร์ทาริกและทำให้เครื่องดื่มใส โดยการกรอง ปฏิกิริยาการย่อยสลาย ปฏิกิริยาการรวมตัวเช่นเดียวกับสารฟีนอลชนิดอื่นๆ ในระหว่างการผลิตไวน์มีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารแอนโทไซยานินในไวน์อีกด้วย อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีภายในเซลล์ที่จะสร้างความแตกต่างระหว่างพันธุ์องุ่น พื้นที่ที่ใช้ในการปลูก ปริมาณผลผลิต และเทคนิคในการผลิตไวน์ (Monagas และ Bartolomé, 2009)

2.6 อนุมูลอิสระ (free radical)

อนุมูลอิสระ (free radical) คือโมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอก เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีในลักษณะเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ สามารถ เข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้นส่งผลให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่างๆของเซลล์ภายในร่างกาย ไม่ว่าจะเป็นการทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) การเปลี่ยนสภาพโปรตีนและไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์หรือการสร้างพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) กับโปรตีนหรือเอนไซม์บางชนิดจนทำให้การทำงานของโปรตีนหรือเอนไซม์เหล่านั้นผิดปกติเป็นสาเหตุสำคัญของโรคหลายชนิด อนุมูลอิสระเกิดจากผลพลอยได้จากการใช้ออกซิเจนของกระบวนการเมทาบอลิซึม (metabolism) ของเซลล์ รวมทั้งปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่ มลพิษ การติดเชื้อโรค รังสีอัลตร้าไวโอเลต (UV-ray) โอโซน (ozone) ควันจากท่อไอเสียรถยนต์และควันบุหรี่ อนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถถูกกำจัดหรือลดความรุนแรงด้วยสารที่เรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ที่สามารถจับกับอนุมูลอิสระแล้วเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่เสถียรกว่า ส่งผลให้หยุดวงจรการเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ได้ ความเข้าใจถึงปัจจัยที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ กลไกหรือปฏิกิริยาเคมีรวมถึงบทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระนับว่าเป็นสิ่งสำคัญอย่างหนึ่งที่จะช่วยให้สามารถป้องกันอันตรายต่างๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นกับร่างกายของคนเราได้ (Jirum และ Srihanam, 2011)

2.6.1 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ (Sources of free radical)

ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพจะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนเกิดขึ้นอยู่ ตลอดเวลา การเกิดอนุมูลอิสระเหล่านี้มีสาเหตุมาจากปัจจัยทั้งภายในและภายนอกร่างกาย (Jirum และ Srihanam, 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1.1 ปัจจัยภายในร่างกาย ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตจะมีปฏิกิริยามากมายที่เกี่ยวข้องกับทั้งการสร้างและการสลายโมเลกุลของสารที่เรียกว่ากระบวนการเมทาบอลิซึมซึ่งถือเป็นสาเหตุหลักอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Jirum และ Srihanam, 2011)

2.6.1.2 ปัจจัยภายนอกร่างกาย

ก) ยารักษาโรค ยาบางชนิดที่รับประทานเข้าไปในร่างกายสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งยาในกลุ่มต้านจุลชีพและต้านมะเร็ง เช่น บลีโอไมซิน (bleomycin) แอนทราไซคลินส์ (antracyclines) และเมโธทรีเสต (methotrexate) เนื่องจากยาเหล่านี้มีฤทธิ์ในการเสริมปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (pro-oxidation) (Jirum และ Srihanam, 2011)

ข) รังสี การใช้รังสีรักษาโรค เช่น รังสีเอกซ์ (X-ray) รังสีแกมมา (γ-ray) อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายจากการถ่ายทอดพลังงานให้กับน้ำซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์แล้วก่อให้เกิดปฏิกิริยาขั้นต่อไป (secondary reaction) กับออกซิเจนที่ละลายอยู่ในเซลล์นั้นได้อนุมูลอิสระเกิดขึ้น (Jirum และ Srihanam, 2011)

ค) ควันบุหรี่ ในควันบุหรี่มีส่วนประกอบของไนตริกออกไซด์ (NO) ไนโตรเจนออกไซด์ (NO_2) และเพอรอกซีไนไตรท์ ($ONOO^-$) รวมทั้งสารมลพิษ ได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) และคาร์บอนเตรตตะคลอไรด์ (CCl_4) ซึ่งจะถูกกาจัดออกจากร่างกายโดยการทำงานของเอ็นไซม์ไซโทโครม P-450 ไฮดรอกซีเจส (cytochrome P-450 hydroxylase) ที่มีอยู่มากในเซลล์ตับและพบได้บ้างในเซลล์ปอดลำไส้เล็ก ทำให้เป็นสาเหตุของการสร้างอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ภายในเซลล์ดังกล่าว (Jirum และ Srihanam, 2011)

ง) โอโซน โอโซนไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระแต่จัดเป็นสารออกซิไดส์แรงสูงซึ่งสามารถเปลี่ยนรูปเป็นอนุมูลไฮดรอกซิลได้จากการกระตุ้นของคลื่นแสง (Jirum และ Srihanam, 2011)

2.7 สารต้านอนุมูลอิสระ

การออกซิเดชันของไขมันในอาหารและระบบชีวภาพมีผลกระทบที่หลากหลายต่ออุตสาหกรรมอาหารเช่นเดียวกับสุขภาพของมนุษย์ ปฏิกิริยาออกซิเดชันอาจเกิดในอาหารระหว่างการเก็บเกี่ยว การแปรรูป และการเก็บรักษา ซึ่งจะทำให้เกิดกลิ่นและรสหืนในอาหาร ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในอาหารและระบบชีวภาพมีผลกระทบที่หลากหลายต่ออุตสาหกรรมอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่นเดียวกับสุขภาพของมนุษย์ ปฏิกิริยาออกซิเดชันอาจเกิดในอาหารระหว่างการเก็บเกี่ยว การแปรรูป และการเก็บรักษา ซึ่งจะทำให้เกิดกลิ่นและรสหืนในอาหาร และยังมีผลทำให้คุณภาพทางโภชนาการและความปลอดภัยของอาหารลดลงจากการสร้างสารประกอบที่เป็นพิษ ดังนั้นจึงทำให้อาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบไม่เหมาะสมสำหรับการบริโภค ยังได้รับการรายงานถึงปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในเซลล์ว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคต่างๆที่เป็นปัญหาต่อสุขภาพของมนุษย์ เช่น การเกิดมะเร็ง การเกิดการอักเสบ โรคหลอดเลือดแข็งตัวและการแก่ชรา วิธีการที่ใช้สำหรับป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันคือการเติมสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นวิธีที่ให้ประสิทธิภาพที่ดีที่สุด สะดวกและประหยัดเพื่อคงสภาพอาหารและสินค้าที่ไม่ใช่อาหาร สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่ชะลอหรือป้องกันไม่ให้เกิดออกซิเดชันของสารตั้งต้นเมื่อยู่ในระดับความเข้มข้นต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับสารตั้งต้นที่ถูกออกซิไดซ์ เพื่อพิจารณาในด้านอาหาร สารต้านอนุมูลอิสระถูกจำแนกในฐานะของสารประกอบที่สามารถชะลอ หน่วงเหนี่ยวหรือป้องกันกระบวนการเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน ส่วนในแง่ของผลกระทบที่เกิดกับร่างกายมนุษย์ สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารในอาหารซึ่งช่วยลดผลกระทบที่เกิดขั้นจากอนุมูลที่เกิดขึ้น (reactive species) เช่น อนุมูลของออกซิเจนและไนโตรเจน ต่อหน้าที่ทางสรีรวิทยาปกติตามที่กำหนดไว้โดยสถาบันการแพทย์ สารต้านอนุมูลอิสระ ตัวอย่างเช่น บิวทิเลทเตดไฮดรอกซีแอนนีซอล (butylated hydroxyanisal หรือ BHA) บิวทิเลทเตดไฮดรอกซีโทลูอีน (butylated hydroxytoloene หรือ BHT) และโพรพิวแกลเลท (propylgallate) ได้ถูกใช้ในโรงงานผลิตอาหารกันทั่วโลกเพื่อชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในอาหารและดังนั้นจึงช่วยป้องกันการเสื่อมคุณภาพและช่วยปรับปรุงอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ (He และคณะ, 2012)

2.7.1 หมวดหมู่ของสารต้านอนุมูลอิสระ

ตามวิถีการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระมีสารต้านอนุมูลอิสระ 3 ประเภท ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระที่คล้ายสารจากธรรมชาติ (natural-identical antioxidants) สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติพบมากที่สุด ซึ่งสร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น จุลินทรีย์ในกลุ่มเชื้อราและยีสต์ (fungi) หรือแม้แต่จากสัตว์ แต่ส่วนใหญ่จะสร้างโดยจากพืช สำหรับสารต้านอนุมูลอิสระชนิดสังเคราะห์จะผลิตโดยผู้ที่มีความเชี่ยวชาญโดยวิธีการสังเคราะห์หรือสังเคราะห์ทาง

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชีวภาพในอุตสาหกรรม และสารต้านอนุมูลอิสระที่คล้ายสารจากธรรมชาติพบได้ในอาหาร แต่ก็ถูกสังเคราะห์ขึ้นได้ในอุตสาหกรรม (He และคณะ, 2012)

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเป็นหนึ่งในสาเหตุของการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์อาหารระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา กลไกของปฏิกิริยานี้ดังรูปที่ 2.20 ได้แสดงให้เห็นถึงผลในทางที่เป็นประโยชน์ต่อการเก็บอาหารของสารต้านอนุมูลอิสระชนิดสังเคราะห์และสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติจำนวนมาก สารต้านอนุมูลอิสระที่พบบ่อยดังแสดงในรูปที่ 2.21 ตามกลไกของปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ตัวยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันหลายชนิดสามารถหาได้ เช่น สารยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ โดยทั่วไปเรียกว่าสารต้านอนุมูลอิสระชนิดป้องกัน (preventive antioxidant) ตัวยับยั้งที่ขัดขวางการดำเนินต่อไปของปฏิกิริยาลูกโซ่ออโตออกซิเดชัน (สารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ หรือ chain breaking antioxidnt) ตัวจับซิเกตออกซิเจน (singlet oxygen quenchers) การสร้างสารต้านอนุมูลอิสระที่เหมาะสม ตัวรีดิวซ์ เมทอลคีเลเตอร์ (metal chelaters) และตัวยับยั้งเอนไซม์ (He และคณะ, 2012)

2.7.2 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์

ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างอาจได้รับอิทธิพลมาจากหลายปัจจัย อย่างเช่น การทำงานทางกลและระบบการทดสอบ และไม่สามารถอธิบายได้อย่างเต็มทีโดยใช้การวิเคราะห์เดียว (He และคณะ, 2012)

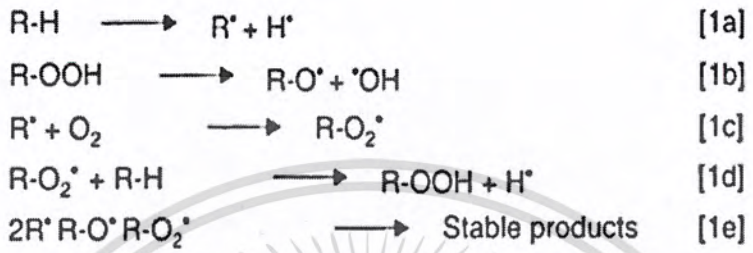
2.7.2.1 วิธีการกำจัดอนุมูล DPPH

อนุมูลของ DPPH สามารถทำให้เกิดอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรในสารละลายที่ประกอบด้วยน้ำหรือเอทานอล และมีการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลตสูงสุดที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่อได้รับโปรตอนจากผู้ให้ไฮโครเจนซึ่งส่วนใหญ่มาจากสารฟีนอลิก สาร DPPH จะเสียโมเลกุลของสารประกอบที่มีสี (chromophore) และกลายเป็นสารที่มีสีเหลือง วิธีนี้ง่ายและถูกใช้ครั้งแรกเพื่อคัดเลือกหาสารประกอบที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัด (He และคณะ, 2012)

การวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH เริ่มจากการนำสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.004 กรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 3.9 มิลลิลิตร ที่ละลายในเอทานอลหรือเมทานอล ผสมกับสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมที่ความยาวคลื่น 515

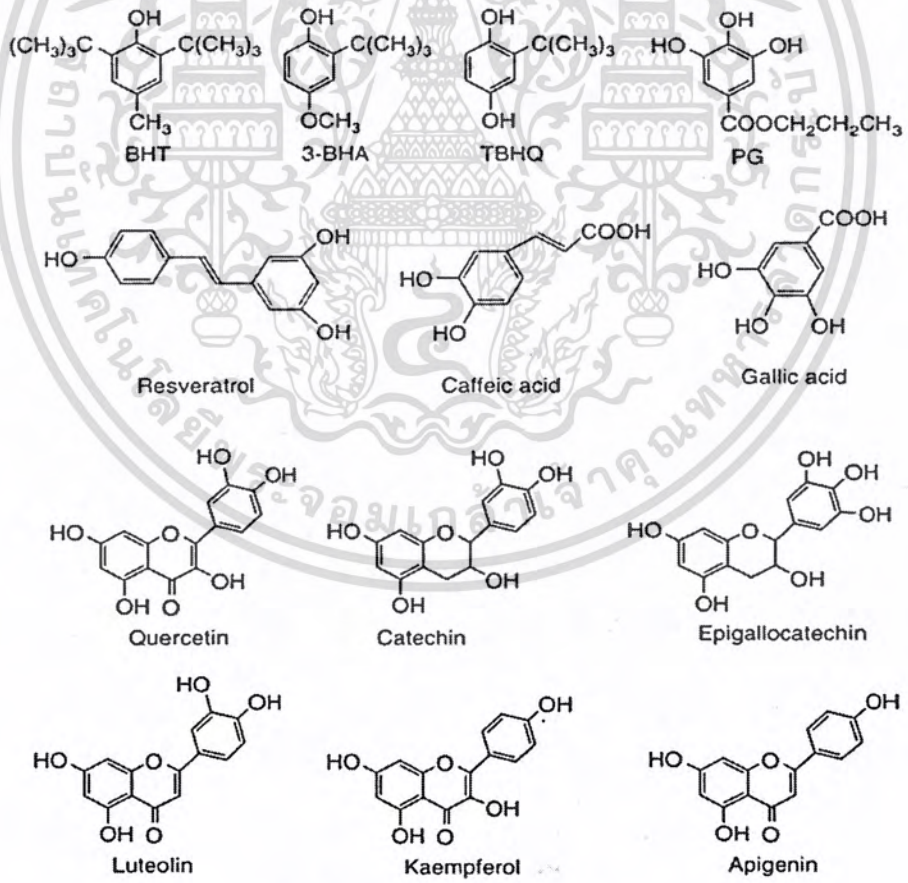
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้ผู้ใดนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาโนเมตร หลังจากทิ้งไว้ 30 นาที หรือจนกระทั่งค่าการดูดกลืนแสงมีความเสถียร ค่ากิจกรรมการกำจัดอนุมูล DPPH redical scavenging activity (ร้อยละ) ของสารตัวอย่างสามารถคำนวณได้โดยใช้สูตร (1- [A_{sample} / $A_{control}$] x100) (He และคณะ, 2012)



รูปที่ 2.20 กลไกของปฏิริยาออกซิเดชันไขมัน

ที่มา: He และคณะ (2012)



รูปที่ 2.21 สารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา: He และคณะ (2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.2.2 วิธี Reducing Power

วิธีการนี้เป็นการมีอยู่ของรีดักแทนต์ (reductant) หรือสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างจะส่งผลให้เกิดการรีดักชันของสารประกอบเชิงซ้อน Fe^{3+} หรือ fericcyanide ไปเป็นสารในรูปของเฟอร์รัส ปริมาณของสารประกอบเชิงซ้อน Fe^{2+} ถูกตรวจหาได้โดยการวัดการสร้าง Perl's Prussian blue ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร (He และคณะ, 2012)

วิธี Reducing Power ทำได้โดยนำสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันผสมกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ที่พีเอช 6.6 และโพแทสเซียมเฟอร์ริกไซยาไนด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร หลังจากผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เติมกรดไตรคลอโรอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายผสมนี้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายชั้นบนปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และเติมเฟอร์ริกคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ blank (He และคณะ, 2012)

ในขณะเดียวกันยังมีอีกวิธีหนึ่งที่อาศัยการรีดิวซ์ของ Fe^{3+} ในการวิเคราะห์วิธีการนี้ Fe(III) $(TPTZ)_2Cl_3$(TPTZ = 2,4,6-tripyridyls-triazine) ถูกใช้ให้เป็นสารออกซิแดนท์ (oxidant) เมื่อสารประกอบเชิงซ้อนได้รับอิเล็คตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้เกิดเกลือของ Fe(III) $(TPTZ)_2Cl_3$ (He และคณะ, 2012)

2.7.2.3 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดหาได้จากวิธีการวัดสี (colorimetric method) กล่าวโดยสรุปคือวิธีการนี้จะมีการเติมสารตัวอย่างที่เจือจางปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรที่มีสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติมอลูมิเนียมไนเตรท ($Al(NO_3)_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อทำให้เกิดการสร้างสารประกอบเชิงซ้อนของฟลาโวนอยด์กับอลูมิเนียม หลังจากนั้น 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 4.3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมสารละลายสุดท้ายให้เข้ากันและทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหูมิห้อง วัดค่าการ

เอกสารนี้ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ไม่อนุญาตให้ใช้เพื่อการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) เปรียบเทียบกับ blank สารประกอบ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดคำนวณในรูปของ catechin equivalent (กรัมของคาเทชินต่อกรัมของตัวอย่าง) (He และคณะ, 2012)

2.7.3 สารต้านอนุมูลอิสระและกลไกการทำงาน

สารต้านอนุมูลอิสระหาชนิดที่มีหน้าที่แตกต่างกันมีบทบาทสำคัญในเครือข่ายของการป้องกันในร่างกาย อาจทำหน้าที่เป็นตัวดักจับอนุมูลอิสระ (free radical sceavengers) ตัวจับซิงเกตออกซิเจน (singlet hydrogen quenchers) ตัวยังยังเปอร์ออกไซด์ (inactivators of peroxides) และอนุมูลอิสระอื่นๆ คีเลเตอร์ของอิออนโลหะ ตัวจับผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและตัวยับยั้งของเอนไซม์ที่ใช้ในการออกซิเดชัน เป็นเรื่องสำคัญที่จะรู้กลไกการทำงานเหล่านี้ ได้มีความสนใจอย่างมากในกลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระฟีนอลิก (phenolic antioxidants) (He และคณะ, 2012)

2.7.3.1 กลไกการดักจับอนุมูลอิสระ

ปฏิกิริยา reactive oxygen spcies (ROS) รวมถึงอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน (superoxide anion, $O_2^{\cdot-}$) อนุมูลไฮโดรเปอร์ออกซิล (hydroperoxyl radical, $HOO^{\cdot}$) อนุมูลเพอร์ออกไซด์ (peroxide radical, $ROO^{\cdot}$) อนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical, $OH^{\cdot}$) ไฮโดจเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) และกรดไฮโดรคลอรัส (hydrochlorous acid, HOCl) ขณะที่ปฏิกิริยาไนโตรเจน (reactive nitrogen species, RNS) รวมถึงอนุมูลอิสระ เช่น ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, $NO^{\cdot}$) และไนโตรเจนไดออกไซด์ (nitrogen dioxide, NO_2) และเพอร์ออกซิไนไตรท์ (peroxynitrite, $ONOO^{-}$) การผลิตอนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นกระบวนการธรรมชาติซึ่งสามารถเกิดขึ้นในขณะที่มีเอนไซม์หรือไม่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง และเกี่ยวข้องกับสุขภาพเมื่อกลไกการป้องกันไม่สามารถที่จะต่อต้านได้ สารประกอบฟีนอลิกและอะโรมาติกเอมีน (aromatic amine) ส่วนใหญ่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ศักยภาพของการจับอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลลิกขึ้นอยู่กับรูปแบบ (ทั้งจำนวนและตำแหน่งที่ทำปฏิกิริยา) ของหมู่ไฮดรอกซิลอิสระ (free OH groups) บนโครงสร้างฟลาโวนอยด์ การทำงานของโพลีฟีนอลโดยการดักจับอนุมูลอิสระก่อนที่สารเหล่านี้จะไปกระทำต่อโมเลกุลที่สำคัญทางชีวภาพโดยการให้อะตอมไฮโตรเจน (ปฏิกิริยาที่ 1) หรือรับอิเล็คตรอน โดยโปรตอนขนส่ง (ปฏิกิริยาที่ 2) เพื่อให้สารประกอบที่มีความเสถียรและอนุมูล

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของสารต้านอนุมูลอิสระ ในปฏิกิริยาที่ 1 สารต้านอนุมูลอิสระ ArOH ได้ย้ายอะตอมไฮโดรเจนไปยังอนุมูลอิสระ R· และได้รับผลิตภัณฑ์ที่มีความ active น้อยลงคือ RH และ ArO· และการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับพลังงานสลายพันธะ (bond dissociation enthalpy) ของพันธะ ArO-H ถ้าค่าพลังงานการสลายพันธะมีค่าต่ำเท่าใดก็จะยิ่งจะทำให้ปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้ง่ายขึ้นเท่านั้น ในปฏิกิริยาที่ 2 อิเล็คตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระถูกย้ายตำแหน่งไปยัง R· และได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความเสถียร ในขั้นตอนนี้ถ้ายิ่งมีค่าไอออไนเซชัน (ionisation potential value) ที่มีค่าต่ำทำให้เกิดปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้ง่ายขึ้นเท่านั้น (He และคณะ, 2012)

$$R^{\cdot} + ArOH \longrightarrow RH + ArO^{\cdot} \qquad (1)$$

$$R^{\cdot} + ArOH \longrightarrow R^{-} + ArOH^{\cdot +} \qquad (2)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

สมุนไพรและผลไม้ ได้แก่ องุ่นแดง (*Vitis vinifera* L, ผล) กระชายดำ (*Kaempferia parviflora*, เหง้า) สีเสียดเทศ (*Uncaria gambir* Roxb, ยาง) บัวบก (*Centellaasiatica Urben,*ใบ) บัวหลวงแดง (*Nymphaea lotus,* ดอก) แปะก๊วย (*Ginkgo biloba,* ใบ) พิลังกาสา (*Ardisia polycephala* Wall, ใบ,ผล) มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* Linn, ผล) ลำดวน (*Melodorum fruticosum* Lour, ดอก) สมอไทย (*Terminalia chebula* Retz, ผล) หญ้าฝรั่น (*Crocus sativus* L, เกสร) อัญชัน (*Clitor ternatea* L, ดอก) สัตตบงกช (*Nelumbo mucifera* Gaerth, ดอก) ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe, เหง้า) รากระย่อม (*Rauvolfia serpentina* L, ราก) ว่านน้ำ (*Acorus calamus* Linn, เหง้า)

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ได้มาจากศูนย์จุลินทรีย์สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ Yeast extract-Malt extract agar/Yeast extract-Malt extract broth

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

กรดแกลลิก (Gallic acid, Fluka, Sigma-Aldrich, Spain) โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate anhydrous, Ajax Finechem, Australia) 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma-Aldrich, Germany) โซเดียมไนไตรต์ (Sodium nitrite, Ajax Finechem, Australia) อลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium chloride, Ajax Finechem Pty ltd, Australia) โฟลิน-ซิโอคาลทู รีเอเจนต์ (Folin-Ciocalteu's reagent, VWR international S. A. S, France) เมทานอล (Methanol, Avantor Performance Materials,Inc., USD) กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid, Carlo Erba, USA) 2,4,6-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tris (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ, Fluka, Sigma-Alrich, Switzerland) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodiun hydroxide, Ajax Finechem, Australia) คาเทชิน (catechin, Sigma-Alrich, Germany) โฟลิน-เดนิส (Folin-denis, Sigma-Alrich, Switzerland) โซเดียมอะซิเตท (Sodium acetate hydrated, Ajax Finechem Pty ltd, Australia) กรดอะซิติก (acetic acid, Ajax Finechem Pty ltd, Australia) เฟอริกคลอไรด์ (ferric choride, POCH SA, Poland) ไดโซเดียมไฮโรเจนฟอสเฟต (di-Sodium hydrogen orthophosphate anhydrous, Ajax Finechem Pty ltd, Australia) โซเดียมฟอสเฟต (Sodium dihydrogen orthophosphate, Ajax Finechem Pty ltd, Australia) Bovine serum albumin (BSA, Calbiochem, EMD chemical, Inc., San Diego, USA) 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB, Sigma-Aldrich, USA) อะซิทิลไทโอโคลีน ไอโอไดด์ (Acetylthiocholine iodide, Fluka, Sigma-Aldrich, UK) อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสชนิด V-S จากปลาไหลไฟฟ้า (Acetylcholinesterase from Electrophorum electricus (electric eel), C2888, Sigma, Sigma-Aldrich Co, USA) Tris-HCl (Vivantis, Technologies Sdn. Bhd., Malasia) กาแลนทามีน (Galanthamine, Sigma-Aldrich Co., USA) กรดแทนนิก (tannic acid, Sigma-Aldrich, china) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide, Merck Schuchardt OHG, Germany) โทรล็อกซ์ ((±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic (trolox), Russia)

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เครื่องบด (blender, National, MX 795N, Philippine) เครื่องระเหยสูญญากาศ (rotary evaporator, Heidolph, Germany) ตู้อบลมร้อน (Memmert, UFE 600, Germany) ตู้บ่มเชื้อ (Memmert, INP 600, Germany) ตู้เย็น (SANYO, SRF383, ประเทศไทย) ตู้เขี่ยเชื้อ (BossTech, VT 90, ประเทศไทย) หม้อนึ่งความดัน (TOMY, ES-315, Japan) เครื่องผสม (vortex mixer, VORTEX GENIE 2, G560E, USA) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Japan) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge, FALCON, 6/300, Germany) กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เครื่องจ่ายตัวอย่างลงเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อแบบอัตโนมัติ (Automated spiral plater) (Spiral Biotech, autoplate 4000, USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การวิเคราะห์องุ่นสด

การวิเคราะห์องุ่นสดโดยนำองุ่นสดที่ใช้ทำไวน์มาล้างให้สะอาดแล้วนำไปปั่นให้ละเอียด จากนั้นวัดค่าพีเอชของน้ำองุ่นปั่น และวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดตามวิธีการของ AOAC (2005) ซึ่งทำได้ดังนี้ ชั่งน้ำองุ่น 10 กรัม เติมน้ำกลั่นปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาตร 90 มิลลิลิตร นำไปตีปั่นให้ละเอียด จากนั้นนำไปไตเตรทกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยใช้ฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ นำค่าที่ได้มาคำนวณในรูปของกรดทาร์ทาริก ดังสมการ

$$\text{g tartaric acid /100 mL} = \text{mL NaOH} \times \text{molarity} \times 0.075 \times (100/\text{sample volume})$$

3.2.1.1 การสกัดองุ่นสด

การเตรียมสารสกัดจากองุ่นทำตามวิธีของ Orak (2007) นำองุ่นสดที่ใช้ทำไวน์มาล้างให้สะอาด แล้วนำไปปั่นให้ละเอียด ชั่งน้ำองุ่น 75 กรัม เติมเมทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร (ที่มีกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นร้อยละ 0.1) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 rpm เป็นเวลา 1 คืน นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เก็บสารสกัดที่ได้ใส่ในภาชนะปิดให้สนิท นำกากองุ่นที่กรองได้ไปสกัดซ้ำด้วยวิธีเดิมจนได้สารสกัดที่มีลักษณะใส แล้วนำสารที่สกัดได้ทั้งหมดมารวมกัน นำไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดจากองุ่นสดพร้อมใช้ในการวิเคราะห์

3.2.1.2 การวิเคราะห์สารสกัดจากองุ่น

นำสารสกัดจากองุ่นที่ได้ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ปริมาณสารแทนนินทั้งหมด กิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีการวัดความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical และวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ทำได้โดยวิธีการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

ก) การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ทำตามวิธีการของ Singleton และคณะ (1999) โดยทำการเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (เจือจางด้วยสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) จากนั้นปิเปตสารสกัดนี้ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่น ultra-pure ปริมาตร 6 มิลลิลิตร ลงไป และนำมาเติมสาร Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำมาเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น ultra-pure ปริมาตร 1.9 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg gallic acid equivalents (GAE)/g extract) ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แทนสารสกัดจากองุ่น ส่วน Blank ใช้เมทานอลแทนสารสกัด แล้วทำการทดลองทุกอย่างตามขั้นตอนของการวิเคราะห์ตัวอย่าง เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างที่วิเคราะห์

ข) การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ทำตามวิธีการของ Yang และคณะ (2009) ปิเปตตัวอย่างสารสกัดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (เจือจางด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้อีก 6 นาที แล้วนำมาเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 3 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยน้ำกลั่น นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ทันที สร้างกราฟมาตรฐานของคาเทชินที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าที่ได้แสดงผลในรูปมิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด (mg catechin equivalents (CE)/ g extract)

ค) การหาปริมาณแทนนินทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณแทนนินทั้งหมดทำตามวิธีการของ Kathirvel และ Sugatha (2012) ซึ่งทำได้ดังนี้ นำสารสกัดองุ่นที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (เจือจางด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 7.5 มิลลิลิตร โดยเติมน้ำกลั่น จากนั้นเติม Folin-Denis reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร โดยน้ำกลั่น วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ทำการสร้างกราฟมาตรฐานของกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณแทนนินแสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด (mg tannic acid equivalents (TAE)/g extract)

ง) การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

การศึกษาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัด โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Ellman's colorimetric ของ Ellman และคณะ (1961) และ Jang และคณะ (2008) ทำได้โดยเติมสารละลายชนิดต่างๆ ลงในหลอดทดลองดังนี้ 1) เอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase) ความเข้มข้น 0.025 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร 2) ตัวอย่างสารสกัดจากองุ่นความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (เจือจางด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ปริมาตร 120 ไมโครลิตร 3) สารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร (pH 8.0) ปริมาตร 2,160 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากันและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที เมื่อครบเวลานำมาเติมสารละลาย 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร และสารละลายอะซิทิลไทโอโคลีนไอโอไดด์ (ATCI) ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่

เอกสารนี้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือแสวงหาผลประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร และนำสารกาแลนทามีนบริสุทธิ์มาทดสอบด้วยเพื่อเปรียบเทียบตัวอย่างสารสกัดจากองุ่น สำหรับชุดควบคุม (control) ทำการทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่างแต่ใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนตัวอย่างสารสกัดจากองุ่น ส่วน Blank จะใช้สารละลาย Tris-HCl buffer แทนเอนไซม์และใช้เมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนตัวอย่างสารสกัดจากองุ่น นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและชุดควบคุมมาคำนวณหาร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสดังสมการ

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากองุ่น

$A_{\text{ควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

ฉ) การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

ฉ.1 การวัดความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical

การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยการวัดความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ทำการวิเคราะห์โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Costa และคณะ (2012) โดยนำตัวอย่างสารสกัดจากองุ่นความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (เจือจางด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ปริมาตร 120 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ในเมทานอล ปริมาตร 2.8 มิลลิลิตร บ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้เมทานอลเป็น Blank และใช้แอลฟา-โทโคเฟอรอลเป็น positive control ทำการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้น 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.5625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดองุ่น ค่าที่ได้แสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัด (mg trolox equivalents (TE) /g extract)

ฉ.2 การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(FRAP) assay ทำการวิเคราะห์ตามวิธีของ Martins และคณะ (2013) โดยปิเปตตัวอย่างสารสกัดจากองุ่นความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (เจือจางด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติม FRAP reagent ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณหาปริมาณ Fe^{2+} โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเตรียมโดยใช้เฟอรัสซัลเฟต ความเข้มข้น 0.094-3.000 มิลลิโมลาร์ ค่าที่ได้แสดงในรูปมิลลิโมลของเหล็กเฟอรัส (Fe^{2+}) ต่อกรัมของสารสกัด

FRAP reagent เตรียมได้โดยผสมอะซีเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ 2,4,6-tri-2-pyridyl-2-triazize (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ และเฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 10:1:1 (โดยปริมาตร)

3.2.2 การเตรียมเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพร

การทดลองนี้ได้เตรียมเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์ทั้งหมด 5 สูตร (ที่ไม่ผ่านการหมัก) โดยเป็นเครื่องดื่มสมุนไพร 4 สูตร และน้ำองุ่นพาสเจอร์ไรส์ 1 สูตร (ชุดควบคุม) การเตรียมน้ำสมุนไพรสำหรับใช้เป็นเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และสำหรับใช้ผสมกับน้ำองุ่นเพื่อหมักเป็นไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรทำได้ดังนี้ สูตรที่ 1 ประกอบด้วย กระชายดำร้อยละ 10.17 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.08 น้ำร้อยละ 84.75 สูตรที่ 2 ประกอบด้วย แปะก๊วยร้อยละ 0.45 ใบพิลังกาสาร้อยละ 0.45 ใบบัวบกร้อยละ 0.45 ดอกลำดวนร้อยละ 0.45 สัตตบงกชร้อยละ 0.90 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.45 หญ้าฝรั่นร้อยละ 0.45 อัญชันร้อยละ 0.36 น้ำตาลกรวดร้อยละ 5.41 น้ำร้อยละ 90.17 สูตรที่ 3 ประกอบด้วย สมอไทยร้อยละ 0.88 มะขามป้อมร้อยละ 1.76 ลูกพิลังกาสาร้อยละ 0.62 กระชายดำร้อยละ 2.64 อัญชันร้อยละ 0.35 แปะก๊วยร้อยละ 0.24 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.28 น้ำร้อยละ 88.23 สูตรที่ 4 ประกอบด้วยกระชายดำร้อยละ 4.46 สัตตบงกชร้อยละ 0.89 ขิงร้อยละ 1.78 ลำดวนร้อยละ 0.89 รากระย่อมร้อยละ 0.36 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.89 ว่านน้ำร้อยละ 0.53 สีเสียดเทศร้อยละ 0.36 อัญชันร้อยละ 0.71 น้ำร้อยละ 89.13 และสูตรที่ 5 (ชุดควบคุม) ประกอบด้วยองุ่นร้อยละ 56.60 น้ำตาลร้อยละ 5.60 น้ำร้อยละ 37.74 โดยแต่ละสูตรจะเตรียมน้ำสมุนไพรทั้งหมด 3 ส่วนเท่าๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนที่ 1 ใช้เป็นเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์ ส่วนที่ 2 และ 3 นำไปหมักเป็นไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรโดยหมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพร ตามลำดับ

3.2.2.1 การเตรียมน้ำสมุนไพร

การเตรียมน้ำสมุนไพรมีขั้นตอนดังนี้ ชั่งส่วนผสมของสมุนไพรตามสูตร นำสมุนไพรที่เป็นส่วนผสมแต่ละชนิดมาหั่นหรือตำ แล้วเทลงในภาชนะสแตนเลสปากกว้าง เติมน้ำให้ได้ตามสัดส่วน นำไปตั้งไฟต้มจนเดือดแล้วจับเวลาหลังการเดือด 15 นาที เสร็จแล้วยกลง กรองด้วยผ้าขาวบาง แบ่งน้ำสมุนไพรใส่ขวดที่ฆ่าเชื้อแล้วเพื่อใช้เป็นตัวอย่างเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์ที่ไม่ผ่านการหมัก นำน้ำสมุนไพรที่เหลือไปผสมกับน้ำองุ่นปั่นเพื่อการหมักไวน์

3.2.2.2 การหมักไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพร

ก) การเตรียมยีสต์สตาร์ทเตอร์สำหรับหมักไวน์

การเตรียมสตาร์ทเตอร์สำหรับหมักไวน์มีขั้นตอนดังนี้ นำสับปะรดมาปอกเปลือก ปาดตาทิ้ง ไม่เอาแกน หั่นสับปะรดแล้วสับให้หยาบๆ นำไปคั้นน้ำและกรองผ่านผ้าขาวบาง วัดปริมาตรน้ำสับปะรด เติมน้ำไปอีก 2 เท่าของปริมาตรน้ำสับปะรด จากนั้นปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดให้ได้ 22-24 องศาบริกซ์ บรรจุใส่ฟลาสก์ ต้มฆ่าเชื้อพอเดือดยกลงทันที ทำให้เย็น เขี่ยเชื้อจาก slant ครึ่งหลอด บ่มที่อุณภูมิห้อง 3-5 วัน นำไปใช้ในการผลิตไวน์

ข) การเตรียมน้ำองุ่นสำหรับหมักไวน์

นำองุ่นแดงมาล้างให้สะอาด สะเด็ดน้ำแล้วผ่าเอาเมล็ดออก ปั่นเนื้อองุ่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้จะได้น้ำองุ่นที่พร้อมที่จะนำไปหมักไวน์

ค) การเตรียมน้ำหมักเพื่อหมักไวน์

ในการผลิตไวน์แต่ละสูตรทั้งหมด 5 สูตรโดยสูตร 1 ถึง 4 เป็นไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพร ส่วนสูตรที่ 5 เป็นไวน์องุ่นที่ไม่ได้ผสมสมุนไพร (ชุดควบคุม) ในกรณีของไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรได้ทดลองเปรียบเทียบการหมักไวน์องุ่นผสมน้ำสุมนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรโดยมีขั้นตอนการผลิตดังนี้ นำน้ำองุ่นที่ปั่นเตรียมไว้มาผสมกับน้ำสมุนไพรแต่ละสูตรที่เตรียมไว้ข้างต้นในอัตราส่วนของน้ำสมุนไพรต่อน้ำองุ่นเท่ากับ 40:60 (โดยน้ำหนัก) กรณีที่หมักพร้อมกากเติมกากสมุนไพรลงไปด้วย จากนั้นเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (diammonium phosphate) ร้อยละ 0.03 ของน้ำหนักไวน์ทั้งหมด และกรดซิตริก (citric

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

acid) ร้อยละ 0.02 ของน้ำหนักไวน์ทั้งหมด ผสมให้เข้ากันแล้วนำมาปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดให้ได้ 24 องศาบริกซ์ นำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที บรรจุใส่ ฟลาสก์ปิดด้วยจุกสำลีให้สนิท นำไปทำให้เย็นทันทีแล้วเติมยีสต์สตาร์ทเตอร์ร้อยละ 5 ทิ้งไว้ให้เกิดการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เมื่อบ่มครบเวลานำไวน์มาพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที บรรจุใส่ขวดปิดฝาให้สนิท ทำการบ่มไวน์เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วทำให้ไวน์ใสโดยการถ่ายใส่ขวดใหม่ (racking) จากนั้นทำการบ่มไวน์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ต่อไปอีกเป็นเวลา 19 สัปดาห์ นำไวน์ที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่าพีเอชด้วยเครื่องวัดพีเอชมิเตอร์ ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ปริมาณสารแทนนินทั้งหมด วิเคราะห์กิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส วิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีการวัดความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical และวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

3.2.2.3 การวิเคราะห์เครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพร

1. การวิเคราะห์หาค่าพีเอช

นำเครื่องดื่มไปวัดค่าพีเอชด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์

2. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดในไวน์ทำตามวิธีการของ AOAC (2005) ดังนี้ ปิเปตเครื่องดื่ม 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาตร 90 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปไตเตรทกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยใช้ฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ นำค่าที่ได้มาคำนวณในรูปของกรดทาร์ทาริก ดังสมการ

$$\text{g tartaric acid /100 mL} = \text{mL NaOH} \times \text{molarity} \times 0.075 \times (100/\text{sample volume})$$

3. การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ทำตามวิธีการของ Singleton และคณะ (1999) ปิเปตเครื่องดื่มที่ผ่านการเจือจาง 1:10 เท่า ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่น ultra-pure ปริมาตร 6 มิลลิลิตรลงไป และนำมาเติมสาร Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำมาเติมสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น ultra-pure ปริมาตร 1.9 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร (mg gallic acid equivalents (GAE)/100 ml beverage) ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แทนเครื่องดื่ม ส่วน Blank เป็นเมทานอลแทนเครื่องดื่ม เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างที่วิเคราะห์

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ทำตามวิธีการของ Yang และคณะ (2009) ปิเปตตัวอย่างเครื่องดื่มที่ผ่านการเจือจาง 1:10 เท่า ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้อีก 6 นาที แล้วนำมาเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 3 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ทันที สร้างกราฟมาตรฐานของคาเทชินที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าที่ได้แสดงผลในรูปมิลลิกรัมของคาเทชิต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร (mg catachin equivalents (CE)/100 ml beverage)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การวิเคราะห์หาปริมาณสารแทนนินทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารแทนนินทั้งหมดทำตามวิธีการของ Kathirvel และ Sugatha (2012) ซึ่งทำได้ดังนี้ นำเครื่องดื่มที่ผ่านการเจือจาง 1:10 เท่า ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 7.5 มิลลิลิตร โดยเติมน้ำกลั่น จากนั้นเติม Folin-Denis reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร โดยน้ำกลั่น วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ทำการสร้างกราฟมาตรฐานของกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณสารแทนนินแสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร (mg tannic acid equivalents (TAE)/100 ml beverage)

6. การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

การศึกษาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของเครื่องดื่ม โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Ellman's colorimetric ของ Ellman และคณะ (1961) และ Jang และคณะ (2008) ทำได้โดยเติมสารละลายชนิดต่างๆลงในหลอดทดลองดังนี้ 1) เอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase) ความเข้มข้น 0.025 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร 2) เครื่องดื่มแต่ละสูตรที่ผ่านการเจือจาง 1:10,000 เท่า ปริมาตร 120 ไมโครลิตร (หรือมีปริมาตรของเครื่องดื่มที่ยังไม่ผ่านการเจือจางเท่ากับ 0.012 ไมโครลิตร) 3) สารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร (pH 8.0) ปริมาตร 2,160 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากันและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที เมื่อครบเวลานำมาเติมสารละลาย 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร และสารละลายอะ-ซิทิลไทโอโคลีนไอโอไดด์ (ATCI) ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร และนำสารกาแลนทามีนบริสุทธิ์ที่มาทดสอบด้วยเพื่อเปรียบเทียบตัวอย่างเครื่องดื่ม สำหรับชุดควบคุม (control) ทำการทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่าง แต่ใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนตัวอย่างเครื่องดื่ม ส่วน Blank จะใช้สารละลาย Tris-HCl buffer แทนเอนไซม์และใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนตัวอย่างเครื่องดื่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและชุดควบคุมมาคำนวณหาร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ดังสมการ

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของเครื่องดื่มสมุนไพร

$A_{\text{ควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

7. การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

ก. การวัดความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radial

การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยการวัดความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ทำการวิเคราะห์โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Costa และคณะ (2012) โดยนำตัวอย่างเครื่องดื่มที่ผ่านการเจือจาง 1:10 ปริมาตร 120 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ในเมทานอลปริมาตร 2.8 มิลลิลิตร บ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้เมทานอลเป็น Blank ทำการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้น 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.5625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับเครื่องดื่ม ค่าที่คำนวณได้แสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร (mg trolox equivalents (TE)/100 ml beverage)

ข. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ทำการวิเคราะห์ตามวิธีของ Martins และคณะ (2013) โดยปิเปตตัวอย่างเครื่องดื่มปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติม FRAP reagent ปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่อสเปกโตร-โฟโตมิเตอร์ คำนวณหาปริมาณ Fe^{2+} โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเตรียมโดยใช้เฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 0.094-3.000 มิลลิโมลาร์ ค่าที่ได้แสดงในรูปมิลลิโมลของ Fe^{2+} ต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

FRAP reagent เตรียมได้โดยผสมอะซีเตทบัพเฟอร์ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ 2,4,6-tri-2-pyridyl-2-triazize (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ และเฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 10:1:1 (โดยปริมาตร)

8. การวัดค่าสี

ทำการวิเคราะห์สีของเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมสมุนไพรทำการวิเคราะห์สีของเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมสมุนไพรด้วยเครื่องวัดสีของมินอลต้า รุ่น CR-300 วัดค่าสีระบบ CIE L* a* b* โดยใช้ ตัวอย่างในการวิเคราะห์สีปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถ้วยแก้ววัดสีเบอร์ 3 นำไปวางบนหลอดฉายแสง กดปุ่ม measure บนเครื่องประมวลผลข้อมูล (เครื่องวัดสีจะทำการวัด 3 ครั้ง) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง

3.2.2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เมื่อทำการวิเคราะห์เสร็จสิ้น นำผลการทดลองแต่ละการทดลองทั้ง 3 ซ้ำ มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Analysis variance (ANOVA) และ Duncan's multiple range test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลแต่ละทรีทเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 คำนวณโดยใช้โปรแกรม SPSS 22.0.0 (ภาคผนวก ฉ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การวิเคราะห์องุ่นสด

จากการวิเคราะห์องุ่นสดที่ใช้ในการทำไวน์องุ่นผสมสมุนไพร พบว่าองุ่นสดมีค่าพีเอชเท่ากับ 3.97 และพบปริมาณกรดทั้งหมดในองุ่นสดเท่ากับ 0.37 กรัมของกรดทาร์ทาริกต่อองุ่น 100 กรัม

4.2 การวิเคราะห์สารสกัดองุ่น

จากการวิเคราะห์สารสกัดองุ่นที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดองุ่นมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับร้อยละ 0.71 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 5.97 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 201.00 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด และปริมาณแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 55.35 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด สำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH มีค่าเท่ากับ 2.02 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัด และความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.01 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อมิลลิกรัมของสารสกัด (ตารางที่ 4.1)

4.3 การวิเคราะห์สมบัติทางพฤษเคมีของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

เครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่ผ่านการหมัก

4.3.1 ค่าพีเอช ปริมาณกรดทั้งหมด และการวัดค่าสี

จากการวิเคราะห์ค่าพีเอชของเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์ทั้ง 5 สูตร (ตารางที่ 4.2) พบว่าเครื่องดื่มน้ำกระชายดำพาสเจอร์ไรส์มีค่าพีเอชสูงกว่าเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์สูตรอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยค่าพีเอชของเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์มีค่าอยู่ระหว่าง 3.44 ถึง 5.47 สำหรับผลการวัดค่าพีเอชของไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรทั้ง 5 สูตร (ทั้งแบบหมักพร้อมกากและหมักแยกกาก) (ตารางที่ 4.2) พบว่าไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรทุกสูตรมีค่าพีเอชสูงกว่าไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพรในสูตรเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 สมบัติทางพฤกษเคมีและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดองุ่น วิตามินอี และกาแลนทามีน

ตัวอย่างสารสกัด	สมบัติทางพฤกษเคมี[ก]				สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ[ก]	
	Acetylcholinesterase inhibition (%) ± SD	Total Phenolic (mg GAE/g extract) ± SD	Total Flavonoid (mg CE/g extract) ± SD	Tannin (mg TAE/g extract) ± SD	DPPH assay (mg trolox/g extract) ± SD	FRAP assay (mmol Fe(II)/ g extract) ± SD
สารสกัดองุ่น (1 mg/ml)	0.71 ± 0.36	5.97 ± 1.43	201.00 ± 0.00	55.35 ± 0.00	2.02 ± 0.23	0.01 ± 0.00
วิตามินอี (1 mg/ml)	-	267.70 ± 0.71	1,036.00 ± 0.00	197.21 ± 0.00	98.34 ± 0.06	0.36 ± 0.00
กาแลนทามีน (1 mg/ml)	48.52 ± 1.14	-	-	-	-	-
กาแลนทามีน (0.1 mg/ml)	35.82 ± 0.21	-	-	-	-	-

[ก] ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4.2 ส่วนประกอบของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

รหัสของเครื่องดื่ม	ส่วนประกอบ
เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์	
B1	กระชายดำร้อยละ 10.17 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.08 น้ำร้อยละ 84.7
B2	แปะก๊วยร้อยละ 0.45 ใบพิลังกาสาร้อยละ 0.45 ใบบัวบกร้อยละ 0.45 ดอกลำดวนร้อยละ 0.45 สัตตบงกชร้อยละ 0.90 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.45 หญ้าฝรั่นร้อยละ 0.45 อัญชันร้อยละ 0.36 น้ำตาลกรวดร้อยละ 5.41 น้ำร้อยละ 90.17
B3	สมอไทยร้อยละ 0.88 มะขามป้อมร้อยละ 1.76 ลูกพิลังกาสาร้อยละ 0.62 กระชายดำร้อยละ 2.64 อัญชันร้อยละ 0.35 แปะก๊วยร้อยละ 0.24 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.28 น้ำร้อยละ 88.23
B4	กระชายดำร้อยละ 4.46 สัตตบงกชร้อยละ 0.89 ขิงร้อยละ 1.78 ลำดวนร้อยละ 0.89 รากระย่อมร้อยละ 0.36 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.89 ว่านน้ำร้อยละ 0.53 สีเสียดเทศร้อยละ 0.36 อัญชันร้อยละ 0.71 น้ำร้อยละ 89.13
B5 (ชุดควบคุม)	องุ่นร้อยละ 56.60 น้ำตาลร้อยละ 5.60 น้ำร้อยละ 37.74
ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและผ่านการหมักแยกกากสมุนไพร	
W_1 พร้อมกาก	กระชายดำร้อยละ 10.17 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.08 น้ำร้อยละ 84.75
แยกกาก	กระชายดำร้อยละ 10.17 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.08 น้ำร้อยละ 84.75
W_2 พร้อมกาก	แปะก๊วยร้อยละ 0.45 ใบพิลังกาสาร้อยละ 0.45 ใบบัวบกร้อยละ 0.45 ดอกลำดวนร้อยละ 0.45 สัตตบงกชร้อยละ 0.90 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.45 หญ้าฝรั่นร้อยละ 0.45 อัญชันร้อยละ 0.36 น้ำตาลกรวดร้อยละ 5.41 น้ำร้อยละ 90.17
แยกกาก	แปะก๊วยร้อยละ 0.45 ใบพิลังกาสาร้อยละ 0.45 ใบบัวบกร้อยละ 0.45 ดอกลำดวนร้อยละ 0.45 สัตตบงกชร้อยละ 0.90 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.45 หญ้าฝรั่นร้อยละ 0.45 อัญชันร้อยละ 0.36 น้ำตาลกรวดร้อยละ 5.41 น้ำร้อยละ 90.17
W_3 พร้อมกาก	สมอไทยร้อยละ 0.88 มะขามป้อมร้อยละ 1.76 ลูกพิลังกาสาร้อยละ 0.62 กระชายดำร้อยละ 2.64 อัญชันร้อยละ 0.35 แปะก๊วยร้อยละ 0.24 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.28 น้ำร้อยละ 88.23
แยกกาก	สมอไทยร้อยละ 0.88 มะขามป้อมร้อยละ 1.76 ลูกพิลังกาสาร้อยละ 0.62 กระชายดำร้อยละ 2.64 อัญชันร้อยละ 0.35 แปะก๊วยร้อยละ 0.24 น้ำตาลทรายแดงร้อยละ 5.28 น้ำร้อยละ 88.23
W_4 พร้อมกาก	กระชายดำร้อยละ 4.46 สัตตบงกชร้อยละ 0.89 ขิงร้อยละ 1.78 ลำดวนร้อยละ 0.89 รากระย่อมร้อยละ 0.36 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.89 ว่านน้ำร้อยละ 0.53 สีเสียดเทศร้อยละ 0.36 อัญชันร้อยละ 0.71 น้ำร้อยละ 89.13
แยกกาก	กระชายดำร้อยละ 4.46 สัตตบงกชร้อยละ 0.89 ขิงร้อยละ 1.78 ลำดวนร้อยละ 0.89 รากระย่อมร้อยละ 0.36 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.89 ว่านน้ำร้อยละ 0.53 สีเสียดเทศร้อยละ 0.36 อัญชันร้อยละ 0.71 น้ำร้อยละ 89.13
W_5 (ชุดควบคุม)	องุ่นร้อยละ 56.60 น้ำตาลร้อยละ 5.60 น้ำร้อยละ 37.74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ค่าพีเอช ปริมณกรดทั้งหมด และค่าสีของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

ตัวอย่างเครื่องดื่ม	ผลการวิเคราะห์ ± SD[n]					ลักษณะสีที่ปรากฏ
	pH	Total acidity (g tartaric acid/100 ml)	ค่า L*	ค่า a*	ค่า b*	
เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์						
B_1	$5.47^{a} \pm 0.01$	$0.08^{d} \pm 0.00$	$14.66^{d} \pm 0.45$	$10.15^{e} \pm 0.21$	$-4.84^{c} \pm 0.04$	สีน้ำตาลแดง
B_2	$4.10^{c} \pm 0.01$	$0.45^{a} \pm 0.00$	$15.60^{c} \pm 0.04$	$11.86^{a} \pm 0.09$	$-5.17^{d} \pm 0.03$	สีน้ำตาลดำ
B_3	$3.44^{e} \pm 0.01$	$0.48^{a} \pm 0.04$	$18.44^{b} \pm 0.58$	$12.04^{c} \pm 0.16$	$-2.45^{b} \pm 0.12$	สีน้ำตาลเข้มออกดำ
B_4	$4.45^{b} \pm 0.01$	$0.23^{c} \pm 0.00$	$12.34^{e} \pm 0.17$	$11.45^{b} \pm 0.20$	$-6.38^{e} \pm 0.06$	สีน้ำตาลอ่อน
B_5 (ชุดควบคุม)	$3.61^{d} \pm 0.01$	$0.30^{b} \pm 0.00$	$30.61^{e} \pm 0.03$	$5.53^{d} \pm 0.16$	$-1.40^{a} \pm 0.01$	สีชมพูอ่อน
ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและผ่านการหมักแยกกากสมุนไพร						
W_1 พร้อมกาก	$3.91^{b} \pm 0.01$	$0.45^{c} \pm 0.00$	$12.64^{f} \pm 0.01$	$13.43^{e} \pm 0.19$	$-6.39^{f} \pm 0.02$	สีม่วงแดง
แยกกาก	$3.73^{e} \pm 0.01$	$0.43^{c} \pm 0.04$	$11.88^{g} \pm 0.03$	$16.58^{a} \pm 0.64$	$-4.83^{b} \pm 0.04$	สีม่วงแดง
W_2 พร้อมกาก	$3.80^{c} \pm 0.01$	$0.68^{a} \pm 0.00$	$10.48^{i} \pm 0.05$	$15.01^{b} \pm 0.49$	$-7.44^{i} \pm 0.06$	สีม่วงน้ำเงิน
แยกกาก	$3.74^{e} \pm 0.01$	$0.68^{a} \pm 0.00$	$10.71^{h} \pm 0.04$	$14.98^{b} \pm 0.03$	$-6.89^{h} \pm 0.02$	สีม่วงน้ำเงินอ่อน
W_3 พร้อมกาก	$3.61^{g} \pm 0.01$	$0.68^{a} \pm 0.00$	$14.76^{e} \pm 0.06$	$12.13^{d} \pm 0.52$	$-6.33^{e} \pm 0.03$	สีม่วงน้ำตาลเข้ม
แยกกาก	$3.64^{f} \pm 0.01$	$0.60^{b} \pm 0.00$	$15.82^{b} \pm 0.04$	$11.88^{d} \pm 0.66$	$-6.00^{d} \pm 0.03$	สีม่วงน้ำตาลอ่อน
W_4 พร้อมกาก	$3.93^{a} \pm 0.01$	$0.45^{c} \pm 0.00$	$13.71^{e} \pm 0.02$	$12.13^{d} \pm 0.23$	$-6.53^{g} \pm 0.04$	สีม่วงน้ำตาลเข้ม
แยกกาก	$3.78^{d} \pm 0.01$	$0.45^{c} \pm 0.00$	$14.45^{d} \pm 0.03$	$11.84^{d} \pm 0.78$	$-5.08^{c} \pm 0.03$	สีม่วงน้ำตาลอ่อน
W_5 (ชุดควบคุม)	$3.58^{h} \pm 0.01$	$0.45^{c} \pm 0.00$	$19.48^{a} \pm 0.01$	$9.59^{c} \pm 0.43$	$-3.76^{a} \pm 0.01$	สีชมพูอ่อน

[n] ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

สถิติ ($p<0.05$) ยกเว้นไวน์องุ่นผสมสมุนไพรสูตร 3 ที่พบว่าการหมักแบบพร้อมกากสมุนไพรมีค่าพีเอชต่ำกว่าการหมักแบบแยกกากสมุนไพร ซึ่งไวน์กระชายดำที่หมักพร้อมกากสมุนไพรมีค่าพีเอชสูงสุด (3.91) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4.3)

การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดของเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์พบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุด (0.48 กรัมของกรดทาร์ทาริกต่อ 100 มิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สำหรับไวน์องุ่นผสมสมุนไพรพบว่ามีปริมาณกรดทั้งหมดอยู่ระหว่าง 0.43 ถึง 0.68 กรัมของกรดทาร์ทาริกต่อ 100 มิลลิลิตร โดยไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 1 และสูตร 4 มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพรในสูตรเดียวกัน โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในสูตร 4 แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในสูตร 1 (ตารางที่ 4.3)

การวัดค่าสีของเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมสมุนไพรด้วยระบบสี L* a* b* ซึ่งค่า L* แสดงถึงความสว่างของสี ส่วนค่า a* ถ้าหากวัดได้ค่าบวกแสดงว่าวัตถุมีสีแดง และถ้า หากวัดได้ค่าลบแสดงว่าวัตถุมีสีเขียว สำหรับค่า b* ถ้ามีค่าเป็นบวกแสดงว่าวัตถุมีสีเหลือง และถ้าเป็นค่าลบแสดงว่าวัตถุมีสีน้ำเงิน จากข้อมูลการวัดสี (ตารางที่ 4.3)

จากผลการวัดค่าสีของเครื่องดื่มผลปรากฏว่าค่า L* หรือค่าความสว่างในเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์พบว่าน้ำองุ่นพาสเจอร์ไรส์มีค่า L* หรือค่าความสว่าง (30.61) สูงกว่าค่า L* ของเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์สูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) รองลงมาได้แก่ เครื่องดื่มสมุนไพรผสมสูตร 3 (18.44) เครื่องดื่มสมุนไพรผสมสูตร 4 (15.60) น้ำกระชายดำ (14.66) และเครื่องดื่มสมุนไพรผสมสูตร 2 (12.34) ตามลำดับ สำหรับไวน์องุ่นผสมสมุนไพรพบว่าไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักแยกกากทุกสูตรมีค่า L* สูงกว่าไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ไวน์องุ่น (ไม่ผสมสมุนไพร) มีค่าความสว่างสูงสุด (19.48) รองลงมาคือไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพรสูตร 3 (15.83) ไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 (14.76) ไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพรและหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 4 (14.45 และ 13.71 ตามลำดับ) การที่น้ำองุ่นและไวน์องุ่นมีค่า L* สูงสุดเนื่องจากมีส่วนประกอบขององุ่นเพียงอย่างเดียว การที่ค่า L* ของการหมักแบบแยกกากสมุนไพรมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าความสว่างสูงกว่าไวน์ที่หมักพร้อมกากสมุนไพรคาดว่าอาจเป็นเพราะในระหว่างกระบวนการหมักที่มีการเติมกากสมุนไพรจะมีการสกัดสารที่มีอยู่ในสมุนไพรออกมาจำนวนมาก ทำให้ค่าความสว่างน้อยลง

ส่วนค่า a* มีค่าเป็นบวกแสดงถึงสีแดงนั้น เครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์ทุกสูตรมีค่า a* เป็นบวก ซึ่งน้ำองุ่นมีค่า a* น้อยกว่าค่า a* ของเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตรอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สำหรับไวน์องุ่นผสมสมุนไพรพบว่ามีค่า a* เป็นบวกทุกสูตรเช่นเดียวกัน โดยค่า a* ของไวน์องุ่นผสมสมุนไพรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรทุกสูตรมีค่าสูงกว่าค่า a* ของไวน์องุ่น (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งไวน์กระชายดำที่หมักแยกกากมีค่า a* สูงสุด (16.58) อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างระหว่างไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรในสูตร 2 สูตร 3 และสูตร 4 สำหรับค่า a* ของไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากและหมักแยกกากสูตร 1 พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ค่า b* ของทุกชุดการทดลองมีค่าเป็นลบแสดงถึงสีน้ำเงิน โดยเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 มีค่า b* เป็นลบเท่ากับ -6.38 ซึ่งเป็นลบมากกว่าค่า b* ของเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตรอื่นๆ สำหรับค่า b* ของไวน์องุ่นผสมสมุนไพรพบว่าไวน์ที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 2 มีค่าลบเท่ากับ -7.44 ซึ่งเป็นค่าลบมากกว่าไวน์สูตรอื่น นั่นคือมีความเป็นสีน้ำเงินมากกว่าสูตรอื่นๆ ไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรทุกสูตรมีค่า b* เป็นลบสูงกว่าไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพรทุกสูตรมีค่าลบสูงกว่าไวน์องุ่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และพบว่าอื่นๆ ไวน์องุ่นผสมสมุนไพรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรในสูตรเดียวกันสูตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงว่าการหมักแบบพร้อมกากสมุนไพรมีผลทำให้ไวน์มีความเป็นสีน้ำเงินสูงกว่าการหมักแยกกากสมุนไพร

4.3.2 สมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

จากการศึกษาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสของเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์ซึ่งผ่านการเจือจาง 1:10,000 เท่า (ตารางที่ 4.4) พบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมทุกสูตรมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสสูงกว่าน้ำองุ่นพาสเจอร์ไรส์ (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และจากการวิเคราะห์พบว่าเครื่องดื่มน้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตร 3 และสูตร 4 ไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่ผ่านการหมักแบบพร้อมกากสมุนไพรใกล้เคียงกัน (ร้อยละ 22.78 และ 22.54 ตามลำดับ) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

จากการศึกษาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสของไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่ผ่านการหมักแบบพร้อมกากสมุนไพรและที่ผ่านการหมักแบบแยกกากสมุนไพรซึ่งผ่านการเจือจาง 1:10,000 เท่า (ตารางที่ 4.4) พบว่าไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 2 และสูตร 3 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้แตกต่างจากไวน์องุ่นผสมสมุนไพรสูตรเดียวกันที่ผ่านการหมักแบบแยกกากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ระหว่างไวน์ที่ผ่านการหมักแบบพร้อมกากสมุนไพรและหมักแบบแยกกากสมุนไพรสูตร 1 และสูตร 4 แต่เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้ทุกสูตรพบว่าไวน์องุ่นผสมสมุนไพรสูตร 2 ที่ผ่านการหมักแบบพร้อมกากสมุนไพรมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสสูงที่สุด

4.3.3 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

4.3.3.1 ความสามารถในการกำจัด 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรซึ่งผ่านการเจือจาง 1:10 เท่า (ตารางที่ 4.4) ด้วยวิธีการหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลของ DPPH จากผลการทดลองพบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์เกือบทุกสูตร (ยกเว้นน้ำกระชายดำพาสเจอร์ไรส์) มีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูล DPPH สูงกว่าน้ำองุ่นพาสเจอร์ไรส์ (ชุดควบคุม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และยังพบว่าในบรรดาเครื่องดื่มทุกสูตร เครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH สูงที่สุด (93.25 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) รองลงมาคือเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 และสูตร 2 (91.95 และ 91.19 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ)

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรพบว่าไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรทุกสูตรมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH สูงกว่าไวน์องุ่นที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรในสูตรเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 สมบัติทางพฤกษเคมีของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

ตัวอย่างเครื่องดื่ม	Acetylcholinesterase inhibition[ก] (%) ± SD[ข]	Total Phenolic (mg GAE/100 ml beverages) ± SD[ข]	Total Flavonoid (mg CE/100 ml beverages) ± SD[ข]	Tannin (mg TAE/100 ml beverages) ± SD[ข]	DPPH assay (mg trolox/100 ml beverages) ± SD[ข]	FRAP assay (mmol Fe(II)/100 ml beverages) ± SD[ข]
เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์						
B_1	$19.34^{b} \pm 1.09$	$50.82^{d} \pm 0.71$	$237.11^{d} \pm 1.92$	$56.12^{c} \pm 3.55$	$15.15^{c} \pm 0.66$	$0.33^{d} \pm 0.02$
B_2	$14.71^{d} \pm 1.09$	$262.76^{c} \pm 2.57$	$314.33^{c} \pm 2.89$	$257.67^{b} \pm 2.33$	$91.19^{b} \pm 0.45$	$2.51^{c} \pm 0.01$
B_3	$22.78^{a} \pm 0.94$	$494.44^{a} \pm 2.47$	$383.22^{a} \pm 2.55$	$338.29^{a} \pm 3.55$	$91.95^{b} \pm 0.23$	$4.22^{a} \pm 0.00$
B_4	$22.54^{a} \pm 0.74$	$330.25^{b} \pm 2.47$	$375.44^{b} \pm 3.85$	$261.55^{b} \pm 3.55$	$93.25^{a} \pm 0.17$	$3.39^{b} \pm 0.01$
B_5(ชุดควบคุม)	$17.44^{c} \pm 0.62$	$31.89^{e} \pm 1.89$	$207.67^{e} \pm 1.67$	$45.27^{d} \pm 3.55$	$15.62^{c} \pm 0.54$	$0.28^{e} \pm 0.01$
ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและผ่านการหมักแยกกากสมุนไพร						
W_1 พร้อมกาก	$18.15^{e} \pm 0.71$	$61.11^{g} \pm 1.23$	$285.44^{e} \pm 0.96$	$52.25^{g} \pm 3.55$	$22.04^{f} \pm 0.12$	$0.44^{d} \pm 0.01$
แยกกาก	$19.57^{bcd} \pm 0.94$	$37.65^{h} \pm 1.23$	$238.22^{g} \pm 0.96$	$42.17^{h} \pm 3.55$	$19.26^{g} \pm 0.12$	$0.37^{d} \pm 0.01$
W_2 พร้อมกาก	$21.35^{a} \pm 0.36$	$104.73^{e} \pm 1.89$	$382.67^{a} \pm 1.67$	$71.63^{e} \pm 2.33$	$66.19^{d} \pm 0.17$	$1.28^{c} \pm 0.02$
แยกกาก	$20.28^{ab} \pm 0.71$	$74.69^{f} \pm 1.23$	$257.67^{f} \pm 2.89$	$64.65^{f} \pm 2.35$	$45.52^{e} \pm 0.23$	$0.97^{c} \pm 0.01$
W_3 พร้อมกาก	$19.10^{cde} \pm 0.21$	$239.71^{a} \pm 2.57$	$372.67^{b} \pm 1.67$	$157.67^{a} \pm 2.33$	$95.99^{a} \pm 0.06$	$3.57^{a} \pm 0.05$
แยกกาก	$16.84^{f} \pm 0.54$	$203.91^{c} \pm 1.89$	$317.67^{d} \pm 3.33$	$132.87^{b} \pm 3.55$	$95.78^{a} \pm 0.06$	$3.19^{a} \pm 0.03$
W_4 พร้อมกาก	$19.81^{bc} \pm 0.54$	$209.26^{b} \pm 1.23$	$372.11^{b} \pm 1.92$	$84.81^{c} \pm 3.55$	$87.95^{b} \pm 0.23$	$2.14^{b} \pm 0.05$
แยกกาก	$19.93^{de} \pm 0.36$	$129.84^{d} \pm 1.89$	$338.22^{c} \pm 2.55$	$77.05^{d} \pm 1.34$	$74.02^{c} \pm 0.12$	$1.21^{c} \pm 1.01$
W_5 ชุดควบคุม	$18.51^{g} \pm 0.71$	$27.78^{i} \pm 1.23$	$196.00^{h} \pm 1.67$	$34.42^{i} \pm 2.33$	$75.80^{h} \pm 0.45$	$0.35^{d} \pm 0.13$

[ก] กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์ อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของเครื่องดื่มที่ระดับความเจือจาง 1:10,000 เท่า

[ข] ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ระหว่างไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่ผ่านการหมักแบบพร้อมกากและหมักแบบแยกกากสูตร 3 โดยไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากและหมักแยกกากสมุนไพรไพรสูตร 3 มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH สูงที่สุด (95.99 และ 95.78 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ)

4.3.3.2 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพร ซึ่งผ่านการเจือจาง 1:10 เท่า (ตารางที่ 4.4) ด้วยวิธี FRAP method ซึ่งเป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส (Fe^{3+}- TPTZ) ให้เปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส (Fe^{2+}- TPTZ) ซึ่งเกิดจากอะตอมของเหล็กในสาร Fe^{3+}- TPTZ จะถูกรีดิวซ์ให้เป็น Fe^{2+}- TPTZ เทียบกับสารมาตรฐานคือแอลฟา-โทโค เฟอรอล จากผลการทดลองมีความสอดคล้องกับการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มพบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ทุกสูตรมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าสูงกว่าน้ำองุ่นพาสเจอร์ไรส์ (ชุดควบคุม) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และจากการวิเคราะห์พบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (4.22 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) กับเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตรอื่นๆ

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรพบว่าไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรทุกสูตรมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าไวน์องุ่นชุดควบคุมโดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) จากการวิเคราะห์พบว่าไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุดแต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ระหว่างไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรสูตรเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพร (ตารางที่ 4.4) สำหรับเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์พบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ทุกสูตรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ชุดควบคุม (น้ำองุ่น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดคือ น้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 (494.44 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร) รองลงมาคือน้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 และน้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 2 (330.25 และ 262.76 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) สำหรับน้ำกระชายดำพาสเจอร์ไรส์ รวมทั้งน้ำองุ่นพาสเจอร์ไรส์ (เครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ชุดควบคุม) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างต่ำ และพบว่าไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรทุกสูตรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าไวน์ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 3 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (239.71 และ 203.91 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) รองลงมาคือไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 4 (209.26 และ 126.84 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 2 (104.73 และ 74.69 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ส่วนไวน์กระชายดำทั้งที่หมักพร้อมกากและหมักแยกกาก รวมทั้งไวน์ชุดควบคุมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างต่ำ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4)

4.3.5 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

จากการวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ทุกสูตรมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ที่มีปริมาณสารประกอบ ฟลาโวนอยด์สูงที่สุดคือ น้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 (383.22 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร) เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ที่ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างสูงรองลงมาคือ น้ำสมุนไพรผสมผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 และน้ำสมุนไพรผสมผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 2 (375.44 และ 314.33 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) สำหรับน้ำกระชายดำพาสเจอร์ไรส์และน้ำอุ่นพาสเจอร์ไรส์ (ชุดควบคุม) มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณปานกลาง (ตารางที่ 4.4)

สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและไวน์อุ่นน้ำผสมสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพร จากผลการทดลองพบว่าไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรทุกสูตรมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 2 มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุด (382.67 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร) ซึ่งแตกต่างจากสมบัติทางพฤษเคมีชนิดอื่น สำหรับไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างสูงรองลงมาคือ ไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 และไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 4 (372.67 และ 372.11 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของไวน์กระชายดำที่หมักพร้อมกาก (285.44 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ในกรณีของการหมักแยกกากสมุนไพรผลปรากฏว่ามีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยทั้งหมดต่ำกว่าการหมักแบบพร้อมกากสมุนไพรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุดคือไวน์อุ่นน้ำสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพรสูตร 4 (338.22 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร) รองลงมาคือไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 ไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 2 และไวน์กระชายดำที่หมักแยกกาก (317.67, 257.67 และ 238.22 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) สำหรับไวน์ชุดควบคุมพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดต่ำที่สุดคือ 196.00 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร (ตารางที่ 4.4)

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.6 ปริมาณแทนนินทั้งหมด

จากการวิเคราะห์หาสารแทนนินทั้งหมดพบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ทุกสูตรมีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดสูงกว่าเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เช่นเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์ที่มีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดสูงที่สุดคือ น้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 (338.29 มิลลิกรัมของกรดแทนนินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร) รองลงมาคือน้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 และน้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 2 (261.55 และ 257.67 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) สำหรับน้ำกระชายดำพาสเจอร์ไรส์และน้ำอุ่นพาสเจอร์ไรส์มีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดค่อนข้างต่ำ และเช่นเดียวกันไวน์อุ่นที่ผสมน้ำสมุนไพรทุกสูตรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรมีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดสูงกว่าไวน์ชุดควบคุม และพบว่าไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรทุกสูตรมีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดสูงกว่าไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 3 มีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดสูงที่สุด (157.67 และ132.87 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) รองลงมาคือไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 4 (84.81 และ 77.05 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ไวน์อุ่นผสมน้ำสมุนไพรทั้งที่หมักพร้อมกากสมุนไพรและหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 2 (64.65 และ 42.17 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) สำหรับไวน์กระชายดำทั้งที่หมักพร้อมกากและหมักแยกกาก รวมทั้งไวน์ชุดควบคุม พบว่าปริมาณสารแทนนินทั้งหมดที่ได้ค่อนข้างต่ำ (ตารางที่ 4.4)

ผลการวิเคราะห์สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดอุ่นพบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 5.92 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด จากการทดลองของ Santos และคณะ (2011) พบว่าในสารสกัดจากเปลือกอุ่นที่ปลูกในบราซิล (*Vitis vinifera*) เบนิทากา (*V. vinifera*) อิซาเบล (*Vitis labrusca*) และเนียการา (*V. labeusca*) ซึ่งสกัดด้วยเมทานอล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ระหว่าง 1.43 ถึง 2.46 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของอุ่น และในสารสกัดจากเนื้ออุ่นสายพันธุ์ดังกล่าวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ระหว่าง 0.04 ถึง 0.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมขององุ่น สำหรับการทดลองครั้งนี้เป็นการสกัดทั้งเปลือกและเนื้อองุ่นผสมกันจึงมีปริมาณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่า ส่วนปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดองุ่นการทดองครั้งนี้พบว่ามีปริมาณที่สูง (201 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Zhu และคณะ (2012) ที่พบว่าสารสกัดจากเปลือกองุ่น (*Vitis vinifera*) ในเอเชียตะวันออกและอเมริกาเหนือ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอลทั้งหมดอยู่ระหว่าง 67.08 ถึง 1,892.53 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และจากผลกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดองุ่นแม้ว่าการทดลองครั้งนี้จะมีร้อยละการยับยั้งอนุมูล DPPH ไม่สูงมาก แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองของ Fahmi และคณะ (2013) ได้รายงานเกี่ยวกับสมบัติการต้านอนุมูลอิสระขององุ่น (*Vitis vinifera* L) ว่ามีร้อยละการยับยั้งอนุมูล DPPH อยู่ระหว่าง 40.29 ถึง 53.91

การที่พบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมสูตร 2, 3 และ 4 ทั้งที่ไม่ผ่านการหมักและที่ผ่านการหมักมีร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสสูงกว่าน้ำกระชายดำที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ ไวน์กระชายดำที่ผ่านการหมักพร้อมกากและที่ผ่านการหมักแยกกาก รวมไปถึงเครื่องดื่มชุดควบคุม (น้ำองุ่นพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่น) คาดว่าน่าจะเป็นเพราะกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสที่มีอยู่ปริมาณมากในสมุนไพรแต่ละชนิดที่ใช้เป็นส่วนผสมในน้ำสมุนไพร เช่น กระชายดำ บัวสัตตบงกช รากระย่อม และบัวบก จากรายงานการวิจัยของ ธนวรรณ และคณะ (2555) ได้ทำการศึกษาโดยนำสารสกัดจากสมุนไพรทั้งหมด 34 ชนิด ซึ่งทำการสกัดด้วยเมทานอลมาศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมี พบว่าสารสกัดจากกระชายดำ บัวสัตตบงกช รากระย่อม และบัวบก ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้ค่อนข้างมากคือ ร้อยละ 89.35, 75.25, 74.50 และ 72.15 ตามลำดับ

บทบาทหลักของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสคือจะทำให้มีการสิ้นสุดการส่งผ่านกระแสประสาทบริเวณช่องว่างโคลีนเนอร์จิก (cholinergic synapse) โดยการไฮโดรไลซิสของอะซิติลโคลีนอย่างรวดเร็ว การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสเป็นกลยุทธ์อย่างหนึ่งสำหรับการรักษาโรคอัลไซเมอร์ โรค Senile dementia (สมองเหี่ยว) โรค Ataxia (โรคกล้ามเนื้อเสียการประสานงาน) โรคกล้ามเนื้ออ่อนแรง และโรคพาร์กินสัน (Pakinson's disease) (Mukherjee และคณะ, 2007)

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการศึกษานี้ที่พบว่าเครื่องดื่มสมุนไพรผสมสูตร 3 และสูตร 4 ทั้งที่เป็นเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรส์และไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากและที่ผ่านการหมักแยกกากมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูง การที่เป็นเช่นนี้คาดว่าเป็นผลมาจากการมีสมุนไพรหลายชนิดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีผสมกัน เช่น สมอไทย มะขามป้อม ลูกพิลังกาสา บัวสัตตบงกช ขิง บัวหลวงแดง และสีเสียดเทศ จากรายงานการวิจัยของ ธนวรรณ และคณะ (2555) แสดงให้เห็นว่าสมอไทย มะขามป้อม และสีเสียดเทศ มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH ได้ดีโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 387.23 490.47 และ 478.71 ตามลำดับ ส่วนบัวสัตตบงกช ลูกพิลังกาสา บัวหลวงแดง และขิง มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH ได้ค่อนข้างดี โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1,109.99, 1,501.64, 1,591.40 และ 1,715.44 ตามลำดับ และจากผลการทดลองพบว่ามีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Aqil และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาสมุนไพร 12 ชนิดซึ่งสกัดด้วยเมทานอล พบว่าสมอไทยมีร้อยละของการยับยั้งอนุมูล DPPH ได้สูงถึง 85.36 Charoenteeraboon และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาสมุนไพรไทยเพื่อใช้สำหรับการรักษาโรคต่างๆ พบว่ามะขามป้อมมีสมบัติการต้านอนุมูล DPPH ได้ดีโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 51.3 ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการดื่มเครื่องดื่มสมุนไพรผสมสูตรดังกล่าวจะช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกายซึ่งอนุมูลอิสระของออกซิเจน (reactive oxygen species หรือ ROS) และอนุมูลอิสระของไนโตรเจน (reactive nitrogen species หรือ RNS) ถูกสร้างขึ้นโดยระบบภายในร่างกาย เมื่อมีการสัมผัสกับสภาวะทางเคมีกายภาพ หรือสภาวะที่ก่อให้เกิดโรค อนุมูลอิสระสามารถเปลี่ยนแปลงไขมัน โปรตีน ดีเอ็นเอ และเกี่ยวข้องกับการแก่ชรารวมไปถึงการเกิดโรคของมนุษย์ (Devasagayam และคณะ, 2004)

การที่น้ำสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 และไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 (ประกอบด้วย สมอไทยร้อยละ 0.88 มะขามป้อมร้อยละ 1.76 ลูกพิลังกาสาร้อยละ 0.62 กระชายดำร้อยละ 2.64 อัญชันร้อยละ 0.35 แปะก๊วยร้อยละ 0.24) รวมทั้งน้ำสมุนไพราสเจอร์ไรส์สูตร 4 และไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 4 (ประกอบกด้วย กระชายดำร้อยละ 4.46 สัตตบงกชร้อยละ 0.89 ขิงร้อยละ 1.78 ลำดวนร้อยละ 0.89 รากระย่อมร้อยละ 0.36 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.89 ว่านน้ำร้อยละ 0.53 สีเสียดเทศร้อยละ 0.36 อัญชันร้อยละ 0.71) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง คาดว่าอาจจะเป็นเพราะสมุนไพรทุกชนิดที่ใช้เตรียมน้ำสมุนไพรผสมมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบ โดยเฉพาะมะขามป้อมในน้ำสมุนไพรผสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตร 3 และสีเสียดเทศในน้ำสมุนไพรผสมสูตร 4 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างสูง โดยธนวรรณและคณะ (2555) ได้รายงานว่าสารสกัดจากสีเสียดเทศและสารสกัดจากมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 771.59 และ 405.06 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ

เช่นเดียวกันกับผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารแทนนินทั้งหมดของเครื่องดื่ม การที่เครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 และไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 มีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดที่สูงอาจเป็นเพราะสมุนไพรแต่ละชนิดที่ใช้ในการเตรียมน้ำสมุนไพรทั้ง 2 สูตร มีสารแทนนินที่สูงเป็นองค์ประกอบโดยเฉพาะสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง เช่น มะขามป้อม สมอไทย เนื่องจากแทนนินเป็นหนึ่งในสารประกอบโพลีฟีนอลที่พบได้ทั่วไปในพืช (Shahidi และ Naczk, 2004) ดังเช่นรายงานของ Ramakrishna และคณะ (2012) ที่พบว่าในผลของมะขามป้อมอุดมไปด้วยสารแทนนินที่มีปริมาณสูงถึงร้อยละ 28 ของปริมาณสารแทนนินทั้งหมดที่พบในต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Surya และคณะ (2012) ซึ่งรายงานว่าในสมอไทยมีองค์ปรกอบของแทนนินสูงถึงร้อยละ 30

สำหรับเหตุผลที่ว่าในไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 2 มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่สูง ซึ่งแตกต่างจากไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 และสูตร 4 ปริมาณมากกว่าในสูตร 2 นั้นคาดว่าอาจเป็นผลมาจากการรวมตัวกันของปริมาณฟลาโวนอยด์ในสมุนไพรแต่ละชนิดที่ใช้เตรียมน้ำสมุนไพรสูตร 2 (ประกอบด้วย แปะก๊วยร้อยละ 0.45 ใบพิลังกาสาร้อยละ 0.45 ใบบัวบกร้อยละ 0.45 ดอกลำดวนร้อยละ 0.45 สัตตบงกชร้อยละ 0.90 บัวหลวงแดงร้อยละ 0.45 หญ้าฝรั่นร้อยละ 0.45 และอัญชันร้อยละ 0.36) โดยสมุนไพรเหล่านี้โดยเฉพาะลำดวน ใบบัวบก บัวหลวงแดง และใบพิลังกาสา มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูง ดังจะเห็นได้จากผลการทดลองของธนวรรณและคณะ (2555) ที่ได้รายงานว่าในสารสกัดพืชสมุนไพรเหล่านี้ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ค่อนข้างสูง คือมีปริมาณ 323.48, 151.85, 125.16 และ 115.83 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ

ในการทดลองครั้งนี้การที่พบว่าไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักพร้อมกากสมุนไพรมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและปริมาณสารแทนนินทั้งหมดสูงกว่าไวน์องุ่นผสมสมุนไพรที่หมักแยกกากสมุนไพร คาดว่าอาจเป็นเพราะในระหว่าง

เอกสารนี้เป็นกรรมสิทธิ์ของผู้ใช้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการหมักไวน์ด้วยยีสต์ *S. cerevesiae* มีผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักหลายชนิด โดยเฉพาะเอทานอล ซึ่งเอทานอลที่มีอยู่ในปริมาณมากนี้จะไปช่วยสกัดสารประกอบต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบของสมุนไพรออกมาตลอดระยะเวลาการหมัก ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Sirikhansaeng และคณะ (2008) ซึ่งได้รายงานว่าการหมักไวน์มะขามผสมกระชายดำ มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุด (24.41 มิลลิกรัมต่อไวน์ 100 มิลลิลิตร) เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักสภาวะอื่นๆ โดยมีการเติมผิวกระชายดำลงในไวน์มะขามระหว่างกระบวนการหมักไวน์เป็นเวลา 4 เดือน นอกจากนี้ Shahidi และ Naczk (2004) ได้กล่าวไว้ในทำนองเดียวกันว่ากระบวนการหมักไวน์ที่ยาวนานทำให้สารที่เป็นองค์ประกอบขององุ่นถูกสกัดลงในไวน์โดยเอทานอลที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาสมบัติด้านพฤกษเคมี ได้แก่ สมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดองุ่น เครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์ ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักแยกกากสมุนไพร ผลปรากฏว่าสารสกัดองุ่นมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเท่ากับร้อยละ 0.71 เครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 และสูตร 4 มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ดีที่สุด (ร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 22.78 และ 22.54 ตามลำดับ) ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 2 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนได้ค่อนข้างสูงใกล้เคียงกัน (ร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ 21.35 และ 20.28 ตามลำดับ)

สำหรับสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวัดความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH สารสกัดองุ่นมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH เท่ากับ 2.02 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัด เครื่องดื่มที่มีสมบัติต้านอนุมูล DPPH ได้ดี ได้แก่ เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 และสูตร 3 (93.25 และ 91.95 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) สำหรับไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 3 พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH ดีที่สุด (95.99 และ 95.78 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ส่วนการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ซึ่งเป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ ผลปรากฏว่าสารสกัดองุ่นมีความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 0.35 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดคือ เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 และสูตร 4 (4.22 และ 3.39 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลลิตร ตามลำดับ) สำหรับไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 3 พบว่ามีฤทธิ์ในการรีดิวซ์ดีที่สุด (3.57 และ 3.19 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนั้นเครื่องดื่มเหล่านี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สูง ได้แก่ เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 4 เครื่องดื่มสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์สูตร 2 ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 4 ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 494.44, 330.25, 262.76, 239.71 และ 209.26 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร เครื่องดื่มที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณที่สูง ได้แก่ เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 และสูตร 4 (383.22 และ 375.44 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 2 ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 4 (382.67, 372.67 และ 372.11 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) และเครื่องดื่มที่มีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดในปริมาณที่สูง ได้แก่ เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3, สูตร 4, สูตร 2 และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรทั้งที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและผ่านการหมักแยกกากสมุนไพรสูตร 3 ซึ่งมีปริมาณสารแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 338.29, 261.55, 257.67, 157.67 และ 132.87 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการทดลองนี้มีข้อเสนอแนะในการนำเครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์ และไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรมีกิจกรรมการเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสและการต้านอนุมูลอิสระที่ดี เช่น เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์สูตร 3 ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรสูตร 3 ไปปรับปรุงพัฒนาสูตรให้มีประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น เพื่อให้สามารถนำไปบริโภคเป็นเครื่องดื่มทางเลือกที่ช่วยป้องกันการเกิดโรคสมองเสื่อมโดยเฉพาะโรคอัลไซเมอร์และโรคร้ายแรงอื่นๆ ที่มีสาเหตุมาจากการเกิดของอนุมูลอิสระ เช่น โรคหัวใจและโรคความดันโลหิตสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จิรานุช มิ่งเมือง. (2556). **แนวทางการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพร.** สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, หน้า 1-10.

ชาญชัย สาดแสงจันทร์. (2555). **ศักยภาพของพืชสมุนไพรไทยกับภาวะสมองเสื่อม.** วารสารไทยไภษัชยนิพนธ์, 7, หน้า 1-23.

นิจศิริ เรืองรังษี และ พยอม ตันติวัฒน์. (2534). **พืชสมุนไพร.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, หน้า 210-220.

ธารธรรมแก้ว เชื้อเมือง. (2544). **สมุนไพรสำคัญที่ควรรู้.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์กำแก้ว, หน้า 25-201.

ธนวรรณ บุบผาสวรรค์ นันธภรณ์ ตะมะพุฒ และ ยุวภา สีมาขัน. (2555). **การคัดเลือกสมุนไพรไทยที่มีกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และสมบัติทางพฤกษเคมีบางประการเพื่อการประยุกต์ใช้สมุนไพรไทย.** ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พิสุทธิพร ฉ่ำใจ. (2537). **สมุนไพร สรรพคุณและประโยชน์เพื่อการนำไปใช้.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ต้นธรรม, หน้า 13-117.

วุฒิ วุฒิธรรมราช. (2550). **สารานุกรมสมุนไพรไทยรวมหลักเภสัชกรรมไทย.** (พิมพ์ครั้งที่1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, หน้า 23-54.

สุนทร สิงหบุตรา. (2536). **สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด.** (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮ้าส์, หน้า 47-167.

เสริมสิริ วินิจฉัยกุล และคณะ. (2541).**ไม้พื้นบ้าน.** (พิมพ์ครั้งที่2). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์เภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, หน้า 100-354.

สมสุข มัจฉาชีพ. (2542). **พืชสมุนไพร.** (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยบูรพา, หน้า 43-261.

Ames, B. N., Shigenaga, M. K., & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *90*, 7915-7922.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis.* (17th ed.). Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists.

Aqil, F., Ahmad, I., & Mehmood, Z. (2006). Antioxidant and free radical scavenging properties of twelve traditionally used Indian medicinal plants. *Turkish Journal of Biology, 30,* 177-183.

Baydar, N. G., Özkan, G., & Sagdic, O. (2004). Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extract. *Food Control, 15,* 335-339.

Bekhit, A. A., Cheng, V. J., McConnell, M., Zhao, J. H., Sedeole, R., & Harrison, R. (2011). Antioxidant activities, sensory and anti-influenza activity of grape tea infusion. *Food Chemistry, 129,* 837-845.

Charoenteeraboon1, J., Ngamkitidechakul, C., Soonthornchareonnon, N., Kanjana, J., & Sireeratawong, S. (2010). Antioxidant activities of the standardized water extract from fruit of *Phyllanthus emblica* Linn. *Songklanakarin Journal of Science and Technology, 32(6),* 599-604.

Costa, A. S. G., Nunes, M. A., Almeida, I. M. C., Carvalho, M. R., Brroso, M. F., Alves, R. C., & Oiveir, M. B. P. P. (2012). Teas, dietary supplements and fruit juices: a comparative study regarding antioxidant activity and bioactive compounds. *LWT-Food Science and Technology, 49,* 324-328.

Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Boloor, K. K., Ketaki, S. S., Ghaskadbi, S. S., & Lele, R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal of Association of Physicians of India, 52,* 794-804.

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimeter determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology, 7,* 88-95.

Fahmi, A. I., El-Shehawi, A. M., & Nagaty, M. A. (2013). Antioxidant and antimutagenic activities of taif grape (*Vitis vinifera*) cultivars. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 9(2),* 102-117.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

He, C., Pan, Y., Ji, X., & Wang, H. (2012). Antioxidants: introduction. In G. Cirillo, & F. Iemma. (Eds.), *Antioxidant polymers* (pp. 1-14). USA: Scrivener Publishing LLC.

Jang, E. E., Mcdougall, D. E., Pollon, D., Herbert, M., & Russell, P. (2008). Intergrative mixed methods data analytic strategies in research on school success in challenging circumstances. *Mixed Methods Research, 2,* 221-276.

Jirum, J., & Srihanam, P. (2011). Oxidants and antioxidants: sources and mechanism. *Academic Journal Kalasin Rajabhat University,1(1),* 59-70.

Kathirvel, A., & Sujatha, V. (2012). In vitro assessment of antioxidant and antibacterial properties of *Terminalia chebula* Retz. Leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2,* 788-795.

Martins, A. C., Bukman, L., Vargas, A. M. M., Barizão, É. O., Moraes, J. C. G., Visentainer, J. V. & Almeida, V. C. (2013). The antioxidant activity of teas measured by the FRAP method adapted to the FIA system: optimizing the conditions using the response surface methodology. *Food Chemistry, 138,* 574-580.

Monagas, M., & Bartolomé, B. (2009). Anthocyanins and anthocyanin-derived compounds. In M. V. Moreno-Arribas, & M. C. Polo (Eds.), *Wine Chemistry and Biotechnology* (pp. 439-456). New York: Springer Science Business Media LLC.

Mukherjee, P. K., Kumar, V., Mal, M., & Houghton, P. S. (2007). Acetylcholinesterase inhibitors from plant. *Phytomedicine, 14(4),* 289-300.

Mulero, J., Pardo, F., & Zafrilla, P. (2010). Antioxidant activity and phenolic composition of organic and conventional grapes and wine. *Journal of Food composition and Analysis, 23,* 569-574.

Orak, H. H. (2007). Total antioxidant activity, phenolic, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. *Scientia Horticulturae, 111,* 235-241.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ramakrishna, V., Gopi, S., & Setty, O. H. (2012). Indian gooseberry (*Phyllanthus emblica* L.) :phytochemistry pharmacology and therpeutics. *Medicinal Plants: Ohytochemistry Pharmacology and Therepeutics, 2,* 19-33.

Rodrigues, A. D., Scheffela, T. B., Scolaa, G., Santos, M. T., Fankb, B., Freitasb, S. C. V., Danib, C., Vanderlindea, R., Henriquesa, J. A. P., Coitinhoc, A. S., & Salvadora, M. (2010). Neuroprotective and anticonvulsant effects of organic and conventional purple grape juices on seizures in wistar rats induced by pentylenetetrazole. *Neurochemistry International, 60(8),* 799–805.

Santos, L. P., Morais, D. R., Souza, N. E., Cottica, S. M., Boroski, M., & Visentainer, J. V. (2011). Phenolic compounds and fatty acids in different parts of *Vitis labrusca* and *V. vinifera* grape. *Food Reseach International, 44,* 1414-1418.

Shahidi, F., & Naczk, M. (2004). *Phenolic in food and nutraceuticals*. NewYork: CRC Press LLC, (chapter 1).

Singh, G., Kapoor, I. P. S., Singh, P., Heluani, C., & Lampasona, M. P. (2008). Chemistry, Antioxidant, antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale. Food and Chemical Technology, 46,* 3295-3302.

Singleton, V. L. (1982). Grape and wine phenolic: background and prospects. In A. D. Webb (Eds.), *Grape and Wine Centennial Symposium Proceedings* (pp. 215-227). University of Califormnia: Davis.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventor, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocateu reagent. *Methods in Enzymology, 299,* 152-178.

Sirikhansaeng, P., Vichitphan, K., & Vichitphan, S. (2008). The flavonoid content and antibacterial activity from *Kaempferia parviflora* Wall. ex baker in krachai-dum herbal wine. *Journal of Biotechnology, 136,* S746–S747.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Stefenon, C. A., Colombo, M., Bonesi, C. M., Marzarotto, V., Vanderlinde, R., Salvador, M., & Henriques, J. A. P. (2010). Antioxidant activity of sparkling wines produced by champenoise and charmat methods. *Food Chemistry, 119,* 12-18.

Surya, P. D. V., Sree, S. N., Avanigadda, S., & Vangalapati, M. (2012). Pharmacological review on *Terminalia Chebula. International Journal of Reseach in Pharmaceutical and Biomedical Science, 3(2),* 679-683.

Swerdlow, R. H. (2011). Brain aging, alzheimer's disease, and mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta, 1812,* 1630-1639.

Terrier, N., Poncet-Legrang, C., & Cheynier, V. (2009). Anthocyanins and anthocyanin-derived compounds. In M. V. Moreno-Arribas, & M. C. Polo (Eds.), *Wine Chemistry and Biotechnology* (pp. 464-476). New York: Springer Science Business Media LLC.

Varnam, A. H., & Sutherland, J. P. (1994). *Beverages*. London: Chapman & Hall, (Chapter 8).

Yang, J., Martinson, T. E. & Liu, R. H. (2009). Phytochemical profiles and antioxidant activity of grape. *Food Chemistry, 116,* 332-339.

Zhu, L., Zhang, Y., & Lu, J. (2012). Phenolic contents and compositions in skins of red wine grape cultivars among various genetic backgrounds and originations. *International Journal of Molecular Science, 13,* 3492-3510.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Yeast Malt Agar (YMA)

ประกอบด้วย

Yeast Extract	3 กรัม
Malt Extract	5 กรัม
Peptone	5 กรัม
Agar	20 กรัม
Distilled water	1,000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

หมายเหตุ: อาหาร YMB เตรียมโดยใช้ส่วนประกอบเช่นเดียวกับ YMA แต่ไม่เติม Agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลาย

1. การเตรียม Stock solution ของสารสกัดองุ่น

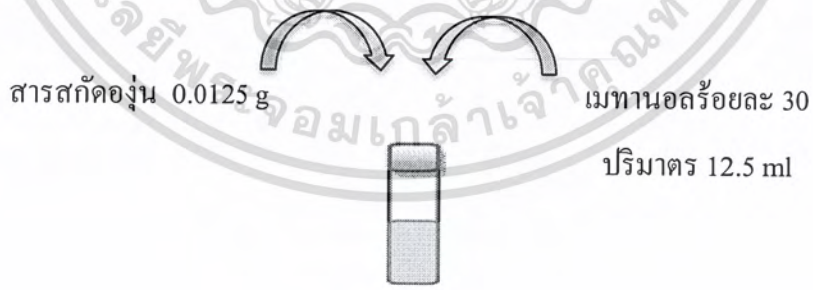
Stock solution ของสารสกัดองุ่นที่ใช้ในการทดลองจะใช้สารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำได้โดยการชั่งสารสกัด 0.0010 กรัม แล้วเติมสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ลงไป 1 มิลลิลิตร ซึ่งการชั่งสารสกัดให้ได้ 0.0010 กรัมนั้นเป็นไปได้ยาก และได้ปริมาตรน้อยมากจึงทำได้ ดังนี้

จากสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กล่าวได้ว่าในสารละลาย 30% methanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีสารสกัดอยู่ 0.0010 กรัม

หรือชั่งสารสกัด 0.0010 กรัม จะเติมสารละลาย 30% methanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

ถ้าชั่งสารสกัด 0.0125 กรัม จะเติมสารละลาย 30% methanol ปริมาตร $\frac{1 \times 0.0125}{0.0010}$ มิลลิลิตร

$= 12.5$ มิลลิลิตร



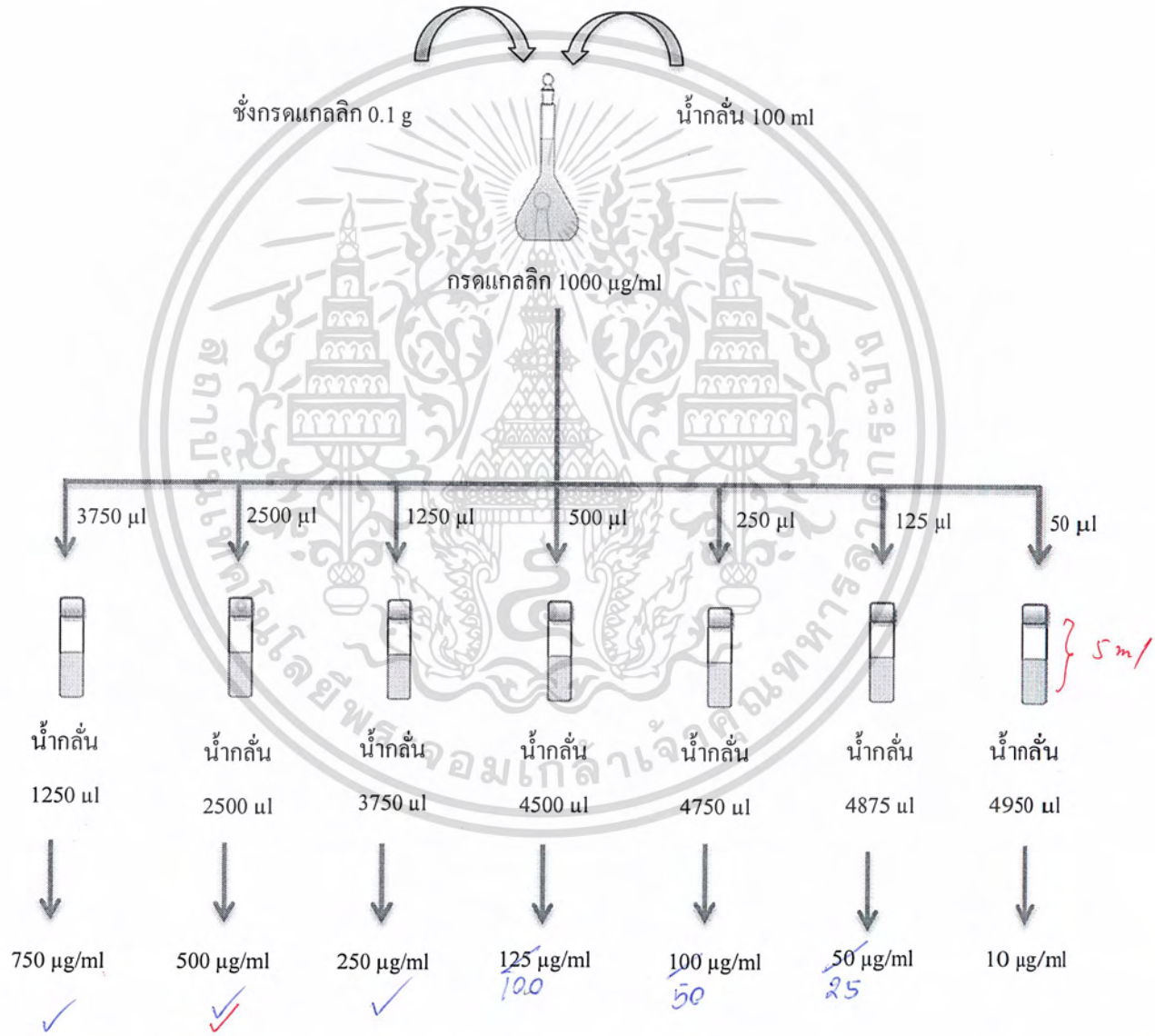
รูป การเตรียมสารสกัดองุ่นความเข้มข้น 1 mg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

2.1 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนี้

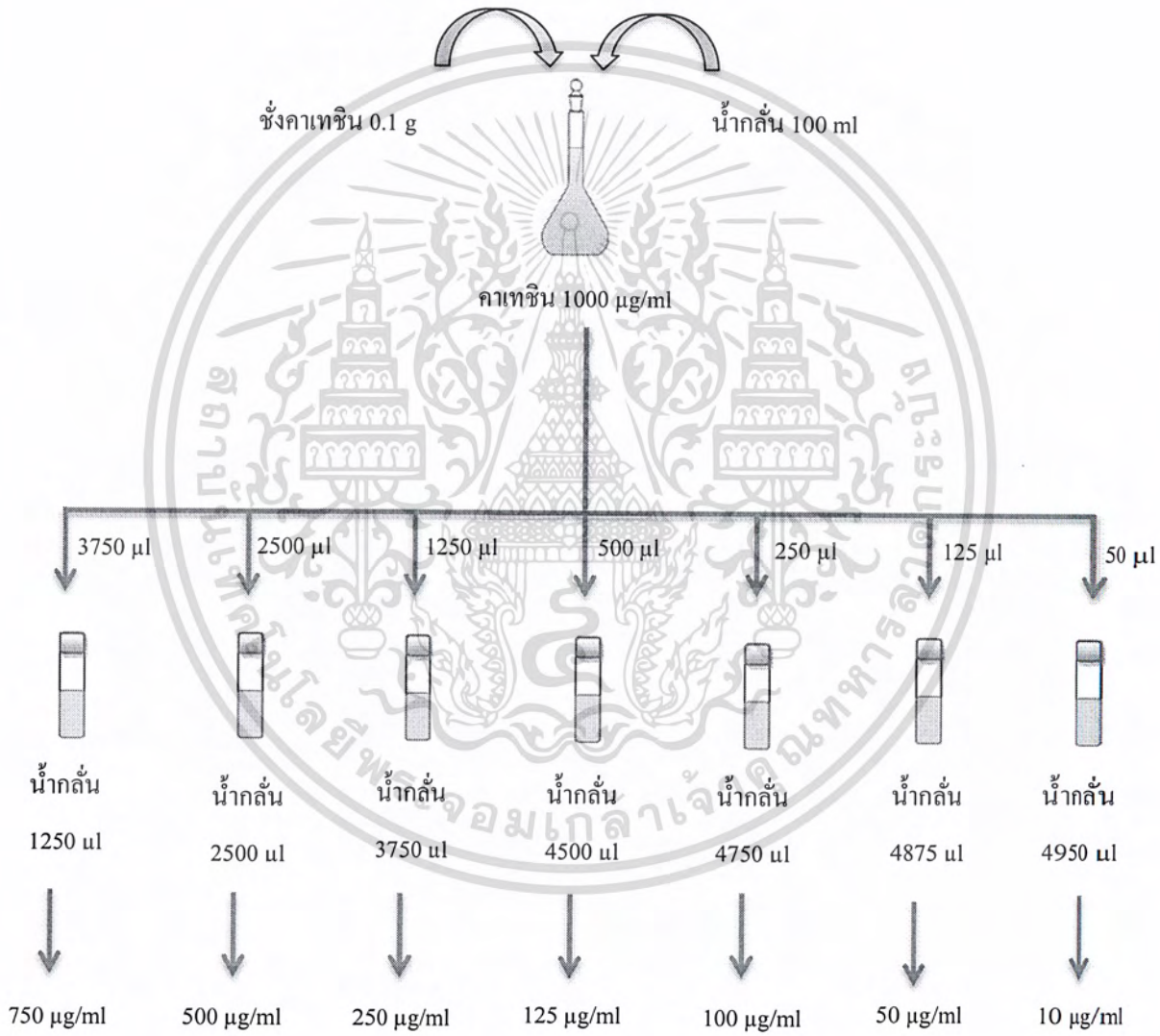


รูป การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 สารละลายมาตรฐานคาเทชิน

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้น 1000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนี้

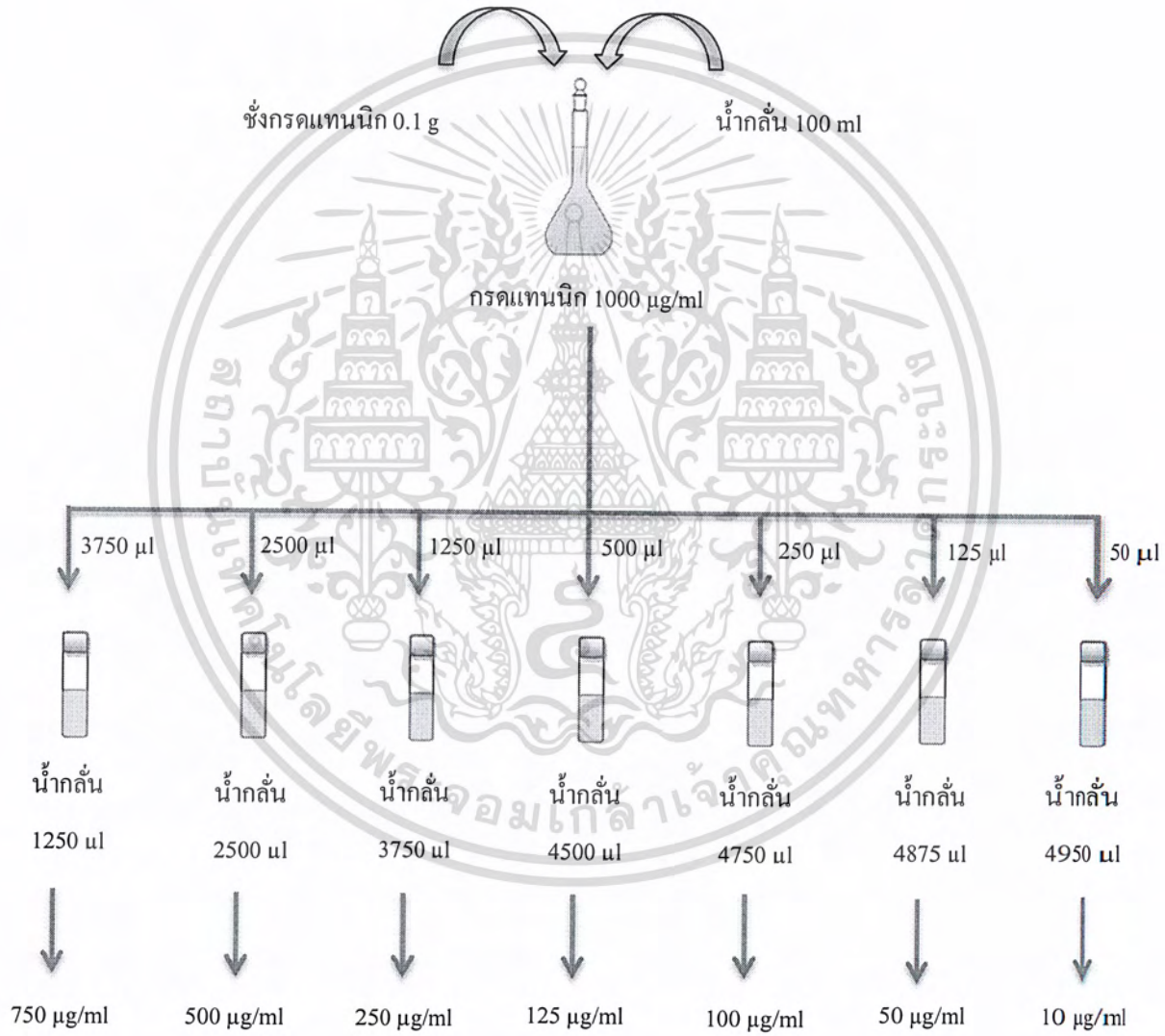


รูป การเตรียมสารละลายมาตรฐานคาเทชิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนี้



รูป การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต ทำได้โดยเตรียมสารละลายเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 10, 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.188, 0.094 และ 0.047 มิลลิโมลต่อลิตร โดยทำการเตรียมสารละลายเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 10 mM ปริมาตร 100 มิลลิลิตร คิดดังนี้

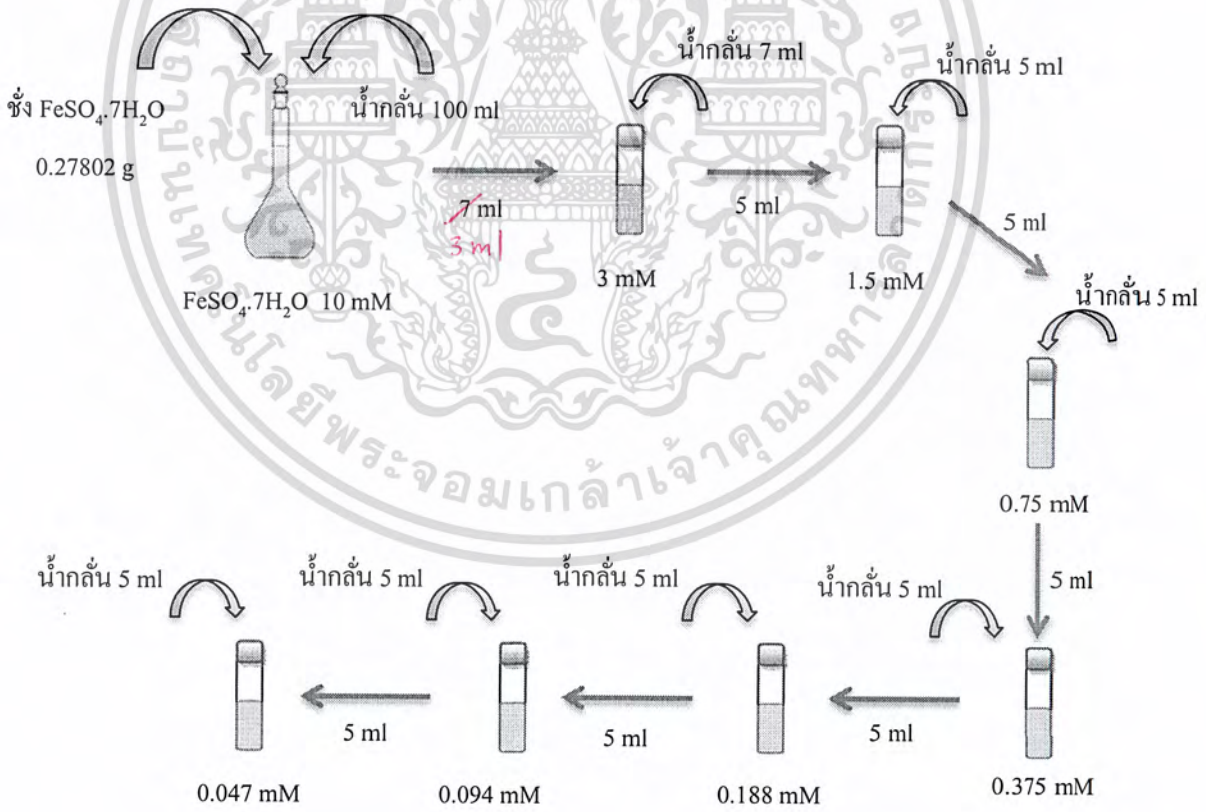
จากมวลโมเลกุลของ $FeSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 278.02 g/mol

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 mol ใช้ $FeSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 278.01 g/L

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 10×10^{-3} mol ใช้ $FeSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 2.7802 g/L

ดังนั้นเตรียมสารละลายปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้องชั่ง $FeSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 2.7802 g

ต้องการเตรียมสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่ง $FeSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 0.27802 g

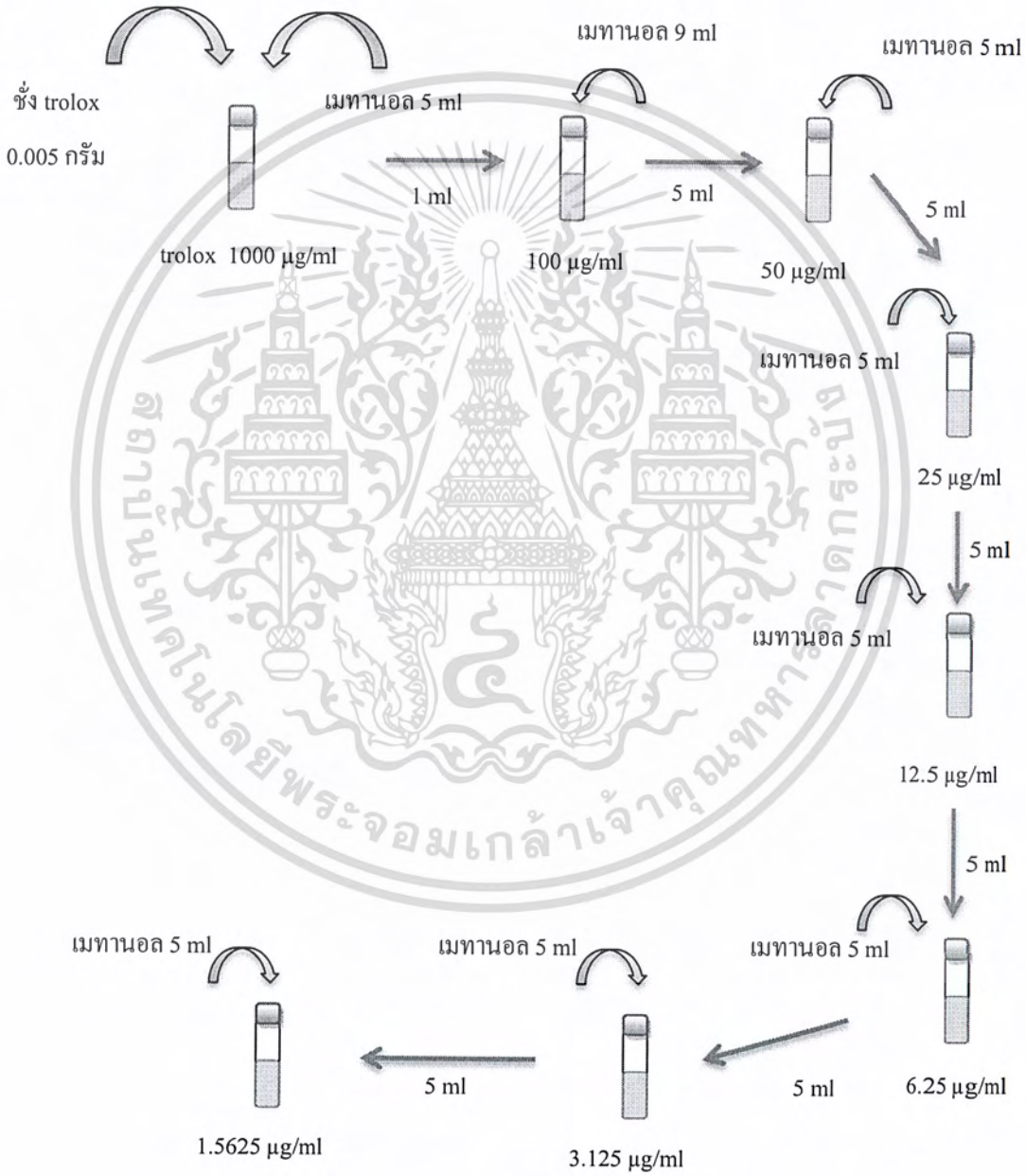


รูป การเตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 สารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ (trolox)

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายโทรล็อกซ์ ทำได้โดยเตรียมสารละลายโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้น 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.5625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนี้

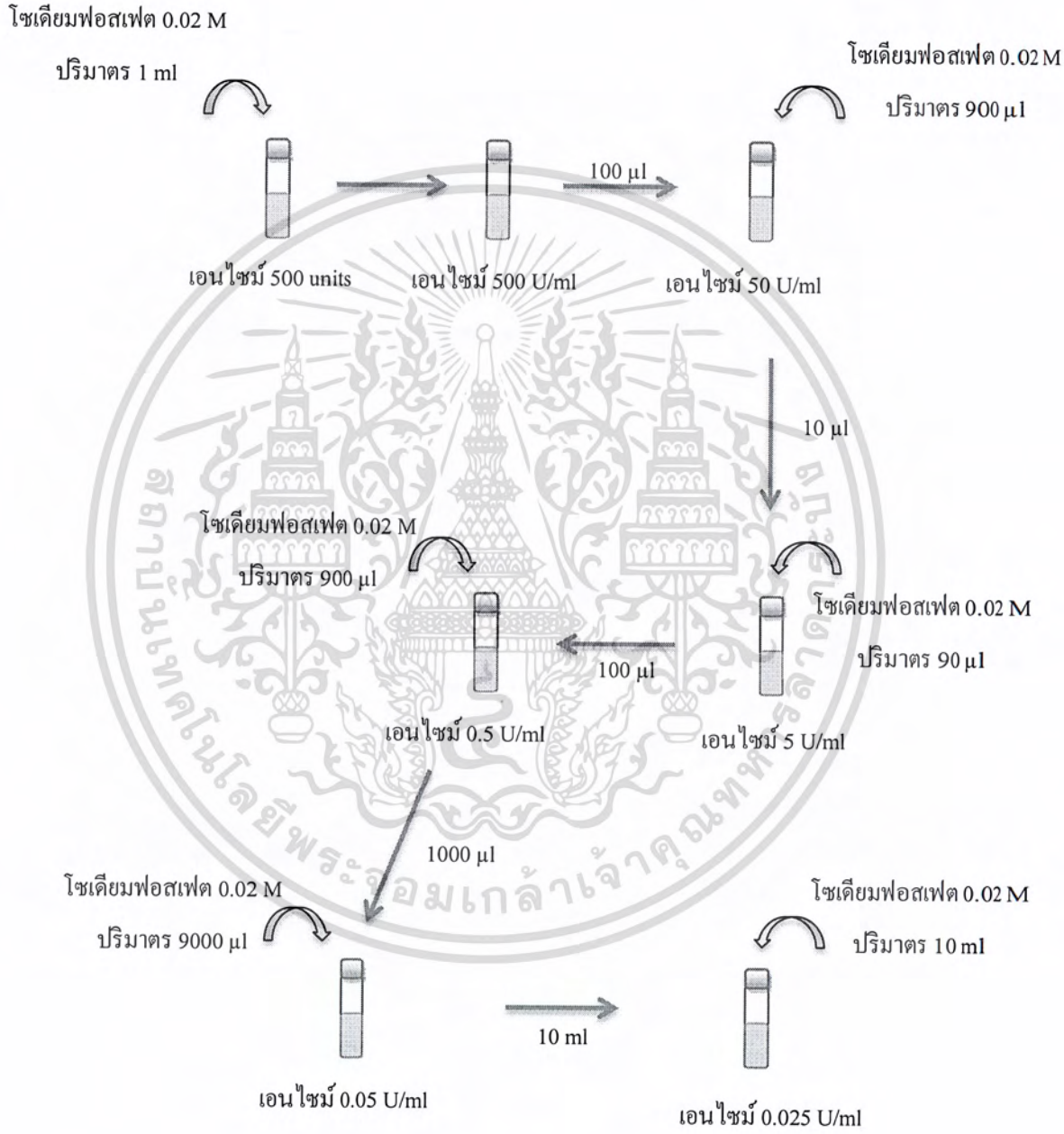


รูป การเตรียมสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ (trolox)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

3.1 เอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสความเข้มข้น 0.025 unit/ml

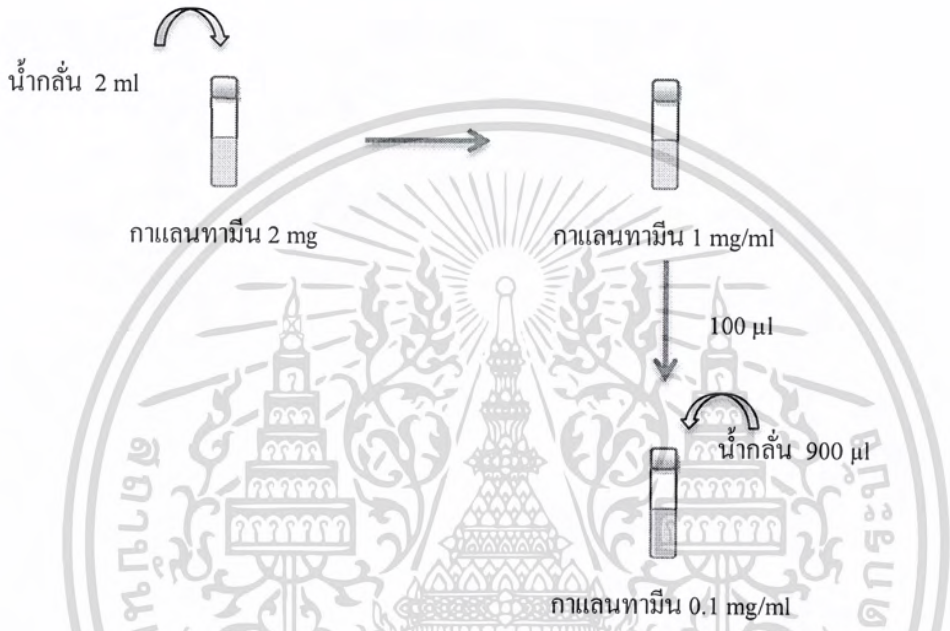


รูป การเตรียมเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสความเข้มข้น 0.025 unit/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 สารกาแลนทามีน

ทำการเตรียมสารกาแลนทามีนความเข้มข้น 1 และ 0.1 mg/ml



รูป การเตรียมสารกาแลนทามีนความเข้มข้น 1 และ 0.1 mg/ml

3.3 สารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

เตรียมสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตรโดยปริมาตร (methanol 30% v/v) ในสารละลาย ปริมาตร 100 ml จใช้เมทานอล ปริมาตร 30 ml ถ้าเตรียมสารละลาย ปริมาตร 1000 ml จะมีเมทานอล ปริมาตร 300 ml

เพราะฉะนั้น ทำการตวงเมทานอลปริมาตร 300 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปปริมาตร 700 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

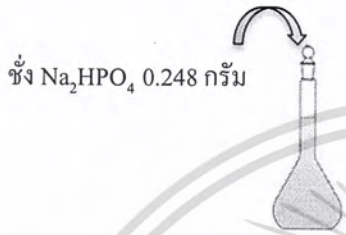
3.4 สารละลายโซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้น 0.02 M

Stock solution 1 Na_2HPO_4 (มวลโมเลกุล 141.96 g/mol)

ในสารละลาย 1000 ml มี Na_2HPO_4 เท่ากับ 0.02 mol

ถ้าสารละลาย 100 ml มี Na_2HPO_4 เท่ากับ 0.002 mol

เท่ากับ 0.002 x 141.96 = 0.248 กรัม

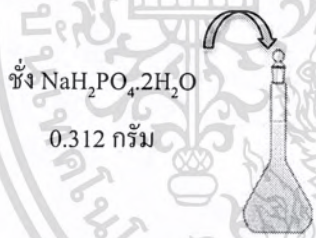


Stock solution 2 $NaH_2PO_4.2H_2O$ (มวลโมเลกุล 156.01 g/mol)

ในสารละลาย 1000 ml มี $NaH_2PO_4.2H_2O$ เท่ากับ 0.02 mol

ถ้าสารละลาย 100 ml มี $NaH_2PO_4.2H_2O$ เท่ากับ 0.002 mol

เท่ากับ 0.002 x 156.01 = 0.312 กรัม



จากนั้นทำการปรับ pH ให้ได้ 7.0 โดยทำการเติม Stock solution 2 ลงใน Stock solution 1 จะได้ สารละลายโซเดียมฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.02 M ที่มี pH เท่ากับ 7.0

3.5 สารละลาย Tris-HCl buffer, pH 8 ความเข้มข้น 0.05 M

มวลโมเลกุลของ Tris-HCl เท่ากับ 121.14 กรัมต่อโมล

ต้องการเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ที่มีความเข้มข้น 0.05 M หรือ 0.05 mol/L

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 mol ต้องใช้ Tris-HCl เท่ากับ 121.14 g/L

ถ้าเตรียมสารละลายความเข้มข้น 0.05 mol ต้องใช้ Tris-HCl เท่ากับ 6.057 g/L

ดังนั้น สารละลาย Tris-HCl buffer ปริมาตร 1000 ml ต้องชั่ง Tris-HCl เท่ากับ 6.057 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้าจะเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ปริมาตร 100 ml ต้องชั่ง Tris-HCl เท่ากับ 0.6057 กรัม

รูป การเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer, pH 8 ความเข้มข้น 0.05 M

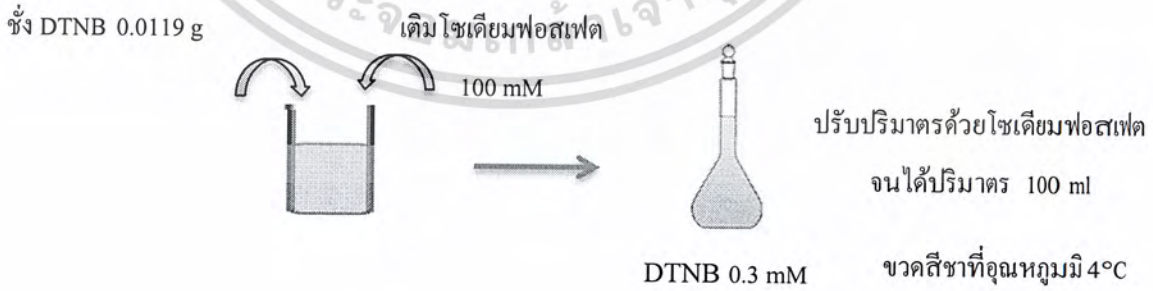
3.6 สารละลาย 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) ความเข้มข้น 0.3 mM

มวลโมเลกุลของสาร DTNB เท่ากับ 396.35 กรัมต่อโมล ต้องการเตรียมสารละลาย DTNB ที่มีความเข้มข้น 0.3 mM หรือ 0.3 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมล ต้องใช้ DTNB เท่ากับ 396.35 กรัมต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น $0.3x10^{-3}$ โมล ต้องใช้ DTNB เท่ากับ 0.1189 กรัมต่อลิตร

สารละลาย DTNB ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้องชั่ง DTNB เท่ากับ 0.1189 กรัม ถ้าจะเตรียมสารละลาย DTNB ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่ง DTNB เท่ากับ 0.0119 กรัม



รูป การเตรียมสารละลาย 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) ความเข้มข้น 0.3 mM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

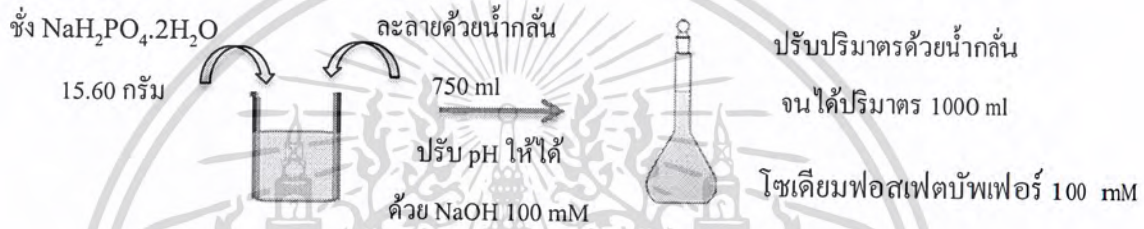
3.7 สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 100 mM

จากมวลโมเลกุลของ $NaH_2PO_4.2H_2O$ เท่ากับ 156.01 กรัมต่อโมล ต้องการเตรียมสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่มีความเข้มข้น 100 mM หรือ 100 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมล ต้องใช้ $NaH_2PO_4.2H_2O$ เท่ากับ 156.01 g/L

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 100×10^{-3} โมล ต้องใช้ $NaH_2PO_4.2H_2O$ เท่ากับ 15.60 g/L

สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้องชั่ง $NaH_2PO_4.2H_2O$ เท่ากับ 15.60 กรัม



รูป การเตรียมสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 100 mM

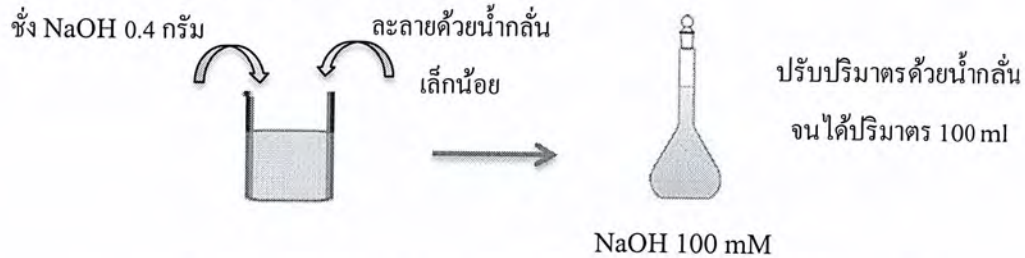
3.8 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 100 mM

จากมวลโมเลกุลของ NaOH เท่ากับ 40 กรัมต่อโมล ต้องการเตรียมสารละลาย NaOH ที่มีความเข้มข้น 100 mM หรือ 100 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมล ต้องใช้ NaOH เท่ากับ 40 กรัมต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 100×10^{-3} โมล ต้องใช้ NaOH เท่ากับ 4 กรัมต่อลิตร

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้องชั่ง NaOH เท่ากับ 4 กรัม ถ้าจะเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่ง NaOH เท่ากับ 0.4 กรัม



รูป การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 100 mM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.9 **สารละลาย Acetylthiocholine iodide (ATCI) ความเข้มข้น 1.8 mM**

จากมวลโมเลกุลของ ATCI เท่ากับ 289.18 กรัมต่อโมล ต้องการเตรียมสารละลาย ATCI ที่มีความเข้มข้น 1.8 mM หรือ 1.8 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมล ต้องใช้ ATCI เท่ากับ 289.18 กรัมต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น $1.8x10^{-3}$ โมล ต้องใช้ ATCI เท่ากับ 0.5210 กรัมต่อลิตร

สารละลาย ATCI ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้องชั่ง ATCI เท่ากับ 0.5210 กรัม ถ้าจะเตรียมสารละลาย ATCI ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลาร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่ง ATCI เท่ากับ 0.0521 กรัม

รูป การเตรียมสารละลาย Acetylthiocholine iodide (ATCI) ความเข้มข้น 1.8 mM

4. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical

4.1 สารละลาย 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ในเมทานอล ความเข้มข้น 0.1 mM

จากมวลโมเลกุลของ DPPH เท่ากับ 394.33 กรัมต่อโมล

เตรียมสารละลาย 1000 mM ต้องชั่ง DPPH 394.33 กรัม

ถ้าเตรียมสารละลาย 0.1 mM ต้องชั่ง DPPH 0.0394 กรัม

ชั่งสาร DPPH 0.0394 กรัม ละลายในเมทานอลเล็กน้อย แล้วค่อยปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้ได้เท่ากับ 1000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assey

5.1 อะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 300 mM

ชั่ง $C_2H_3NaO_2.3H_2O$ 3.1 กรัม ลงใน $C_2H_4O_2$ ปริมาตร 16 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรทั้งหมดให้เป็น 1000 มิลลิลตร

5.2 สารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 mM ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 mM

- เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 mM

โดยหาความเข้มข้นของไฮโดรคลอริกในขวด จากสูตร

$$C = 10dx / Mw$$

C คือ ความเข้มข้นหน่วยเป็นนอร์มอล (N)

d คือ ความหนาแน่น

x คือ % ปริมาณเนื้อกรด

จะได้ $C = (10 \times 1.19 \times 37) / 36.5 = 12.06$ N

เนื่องจาก 1 M กรดไฮโดรคลอริก เท่ากับ 1 N กรดไฮโดรคลอริก

จะได้ว่า กรดไฮโดรคลอกริกมีความเข้มข้น 12.06 M

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

ต้องการเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้ร 40 mM หรือ 0.04 M จากกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 12.06 M จะได้

$$V_1 = (0.04 \times 1000) / 12.06 = 3.32 \text{ มิลลิลิตร}$$

ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 3.32 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นอยู่แล้ว จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ 1000 มิลลิลิตร

- สารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 mM ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 mM

จากมวลโมเลกุลของ TPTZ เท่ากับ 312.33 กรัมต่อโมล

สารละลาย 1000 mM จะมี TPTZ เท่ากับ 312.33 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้าสารละลาย 10 mM จะมี TPTZ เท่ากับ 3.1233 กรัม

ชั่งสาร TPTZ 3.1233 กรัม ละลายในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 mM และปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

5.3 สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ ความเข้มข้น 20 mM

มวลโมเลกุลของ $FeCl_3.6H_2O$ เท่ากับ 270.30 กรัมต่อโมล

สารละลาย 1000 mM จะมี $FeCl_3.6H_2O$ เท่ากับ 270.30 กรัม

ถ้าสารละลาย 20 mM จะมี $FeCl_3.6H_2O$ เท่ากับ 5.406 กรัม

ชั่งสาร $FeCl_3.6H_2O$ 5.406 กรัม ละลายในน้ำกลั่นเล็กน้อย และปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

6. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

6.1 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20

จากในสารละลาย ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้ $NaCO_3$ เท่ากับ 20 กรัม

ชั่ง $NaCO_3$ เท่ากับ 20 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อยจากนั้นเทสารละลายที่ได้นี้ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย $NaCO_3$ ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

7. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

7.1 สารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 (w/v)

จากในสารละลาย ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้ $NaNO_2$ เท่ากับ 5 กรัม

ชั่ง $NaNO_2$เท่ากับ 5 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อยจากนั้นเทสารละลายที่ได้นี้ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย $NaNO_2$ ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

7.2 สารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10

จากในสารละลาย ปริมาตร 100 ml จะใช้ $AlCl_3$ เท่ากับ 10 g

ชั่ง $AlCl_3$เท่ากับ 10 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อยจากนั้นเทสารละลายที่ได้นี้ลงใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย $AlCl_3$ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

7.3 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 M

จากมวลโมเลกุลของ NaOH ความเข้มข้น 1 M เท่ากับ 39 กรัมต่อโมล

ดังนั้น การเตรียมสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 1 โมล ปริมาตร 0.25 ลิตร ต้องใช้ NaOH เท่ากับ 39 x 0.25 = 9.75 กรัม

เพราะฉะนั้น ทำการชั่ง NaOH ความเข้มข้น เท่ากับ 9.75 กรัมแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 250 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย NaOH ความเข้มข้น ความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

8. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด

8.1 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 35

จากในสารละลาย ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้ $NaCO_3$ เท่ากับ 35 กรัม

ชั่ง $NaCO_3$ เท่ากับ 35 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้นี้ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย $NaCO_3$ ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การคำนวณ

1. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้คือกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดองุ่นและเครื่องดื่ม ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารกรดแกลลิกเท่ากับ

สารละลายปริมาตร 1 ml มีเนื้อสารกรดแกลลิก 1000 µg

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 ml มีเนื้อสารกรดแกลลิก $\frac{0.1\ \text{ml} \times 1000\ \mu\text{g}}{1\ \text{ml}} = 100\ \mu\text{g}$

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

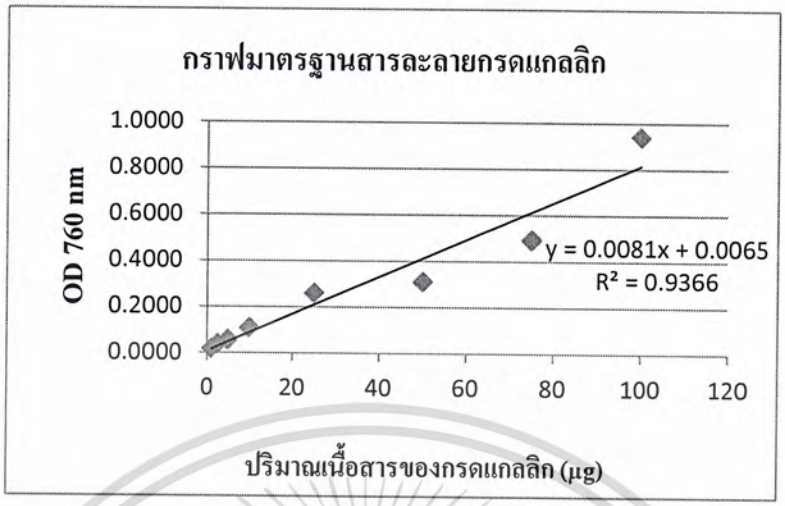
ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ

สารละลายปริมาตร 1 ml มีเนื้อสารกรดแกลลิก 750 µg

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 ml มีเนื้อสารกรดแกลลิก $\frac{0.1\ \text{ml} \times 750\ \mu\text{g}}{1\ \text{ml}} = 75\ \mu\text{g}$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ในการทดลองปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกอยู่ในหลอด เท่ากับ 100, 75, 50, 25, 10, 10, 5, 2.5 และ 1 ไมโครกรัมตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม ได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรและปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

ตัวอย่างที่ 1.1 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดองุ่นได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของสารสกัดองุ่นแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ดังนี้

สารสกัดองุ่น มีค่า A_{760} เท่ากับ 0.012

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

$$Y = 0.0081x + 0.0065$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

แทนค่า $0.012 = 0.0081x + 0.0065$

$$X = \frac{0.012 - 0.0065}{0.0081} = 0.68 \text{ ไมโครกรัม}$$

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดองุ่นที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัด เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณฟีนอลิกในสารสกัด 0.1 mg มีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ 0.68 µg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้าสารสกัด 1 mg มีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก $\frac{1\ mg \times 0.68\ \mu g}{0.1\ mg}$ = 6.8 µg

ถ้าสารสกัด 1000 mg มีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก $\frac{1000\ mg \times 0.68\ \mu g}{0.1\ mg}$ = 6,800 µg

= 6.8 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดจากองุ่นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 6.8 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

ตัวอย่างที่ 1.2 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเครื่องดื่มน้ำกระชายดำได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของน้ำกระชายดำแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกดังนี้

น้ำกระชายดำ ที่ความเจือจาง 10 เท่า มีค่า A_{760} เท่ากับ 0.048

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

$$Y = 0.0081x + 0.0065$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

แทนค่า $0.048 = 0.0081x + 0.0065$

$$0.0081x = 0.048 - 0.0065$$

$$x = \frac{0.048 - 0.0065}{0.0081}$$

$$= 5.12 \text{ ไมโครกรัม}$$

โดยเครื่องดื่มที่ใช้ในการวิเคราะห์มีการเจือจาง 10 เท่า

จะได้ว่า ในเครื่องดื่มเจือจางปริมาตร 10 ml มีเครื่องดื่มบริสุทธิ์ปริมาตร 1 ml

ดังนั้น ถ้าการวิเคราะห์ใช้เครื่องดื่มปริมาตร 0.1 ml จะมีเครื่องดื่มบริสุทธิ์ปริมาตร 0.01 ml

การวิเคราะห์ใช้น้ำกระชายดำปริมาตร 0.01 ml มีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ 5.12 µg ถ้าน้ำกระชายดำปริมาตร 100 ml มีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก $\frac{100\ ml \times 5.12\ \mu g}{0.01\ ml}$ เท่ากับ 51,200 µg

เพราะฉะนั้น น้ำกระชายดำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 51,200 ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร หรือ 51.2 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้คือคาเทชินที่ความเข้มข้น 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดอุ่นและเครื่องดื่ม ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานของคาเทชินที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของคาเทชิน ดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของคาเทชิน เท่ากับ

สารละลายปริมาตร 1 ml มีเนื้อสารคาเทชิน 750 µg

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.25 ml มีเนื้อสารคาเทชิน $\frac{0.25\ \text{ml} \times 750\ \mu\text{g}}{1\ \text{ml}}$

$= 187.5\ \mu\text{g}$

<u>สารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของคาเทชิน เท่ากับ

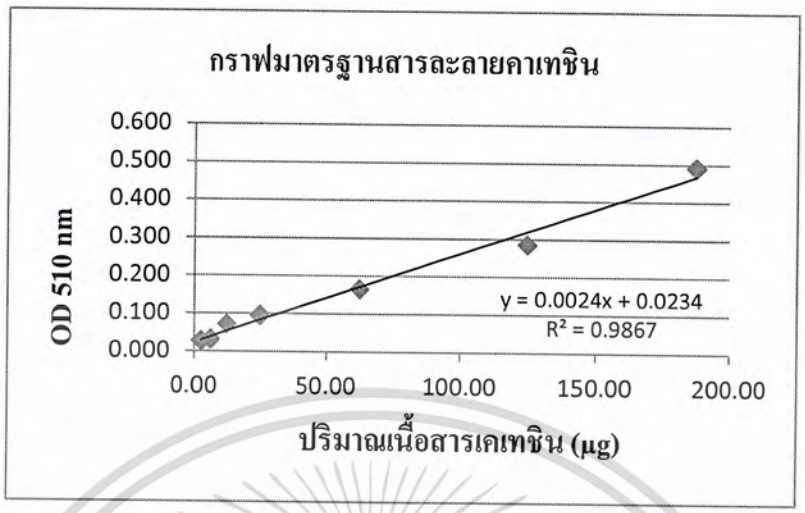
สารละลายปริมาตร 1 ml มีเนื้อสารคาเทชิน 500 µg

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.25 ml มีเนื้อสารคาเทชิน $\frac{0.25\ \text{ml} \times 500\ \mu\text{g}}{1\ \text{ml}}$

$= 125\ \mu\text{g}$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้น 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ในการทดลองปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของคาเทชินอยู่ในหลอด เท่ากับ 187.5, 125, 62.5, 25, 12.5, 6.25 และ 2.5 ไมโครกรัมตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร กับปริมาณเนื้อสารของคาเทชินในหน่วยไมโครกรัม ได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป กราฟมาตรฐานของสารละลายคาเทชินสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรและปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน (ไมโครกรัม)

ตัวอย่างที่ 2.1 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดองุ่น ได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารสกัดองุ่นแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของคาเทชิน ดังนี้

สารสกัดองุ่น มีค่า A_{510} เท่ากับ 0.144

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของคาเทชิน

$$Y = 0.0024x + 0.0234$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

แทนค่า $0.144 = 0.0024x + 0.0234$

$$X = \frac{0.144 - 0.0234}{0.0024}$$

$= 50.25$ ไมโครกรัม

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดองุ่นที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในปริมาตร 250 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัด เท่ากับ 0.25 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัด 0.25 mg มีปริมาณเนื้อสารของคาเทชินเท่ากับ 50.25 µg

ถ้าสารสกัด 1 mg มีปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน $\frac{1\ \text{mg} \times 50.25\ \mu\text{g}}{0.25\ \text{mg}}$ = 201 µg

ถ้าสารสกัด 1000 mg มีปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน $\frac{1000\ \text{mg} \times 50.25\ \mu\text{g}}{0.25\ \text{mg}}$ = 201,000 µg

= 201 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดจากองุ่นมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 201 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด

ตัวอย่างที่ 2.2 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของเครื่องดื่มน้ำกระชายดำ ได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของน้ำกระชายดำแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของคาเทชิน ดังนี้

น้ำกระชายดำ ที่ความเจือจาง 10 เท่า มีค่า A_{510} เท่ากับ 0.165

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของคาเทชิน

$$Y = 0.0024x + 0.0234$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

แทนค่า $0.165 = 0.0024x + 0.0234$

$$X = \frac{0.165 - 0.0234}{0.0024}$$

= 59 ไมโครกรัม

โดยเครื่องดื่มที่ใช้ในการวิเคราะห์มีการเจือจาง 10 เท่า

จะได้ว่า ในเครื่องดื่มเจือจางปริมาตร 10 ml มีเครื่องดื่มบริสุทธิ์ปริมาตร 1 ml

ดังนั้น ถ้าการวิเคราะห์ใช้เครื่องดื่มปริมาตร 0.25 ml จะมีเครื่องดื่มบริสุทธิ์ปริมาตร 0.025 ml

ในการวิเคราะห์ใช้น้ำกระชายดำบริสุทธิ์ปริมาตร 0.025 ml มีปริมาณเนื้อสารของคาเทชินเท่ากับ 59 µg ถ้าน้ำกระชายดำบริสุทธิ์ปริมาตร 100 ml มีปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน $\frac{100\ \text{ml} \times 59\ \mu\text{g}}{0.025\ \text{ml}}$

= 271,100 µg

เพราะฉะนั้น น้ำกระชายดำมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 236,000 ไมโครกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร หรือ 236 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณแทนนินทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณแทนนินทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้คือกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดอุ่นและเครื่องดื่ม ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของกรดแทนนิก ดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ

สารละลายปริมาตร 1 ml มีเนื้อสารกรดแทนนิก 1000 μg

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.05 ml มีเนื้อสารกรดแทนนิก $\frac{0.05\ \text{ml} \times 1000\ \mu\text{g}}{1\ \text{ml}}$

$= 50\ \mu\text{g}$

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ

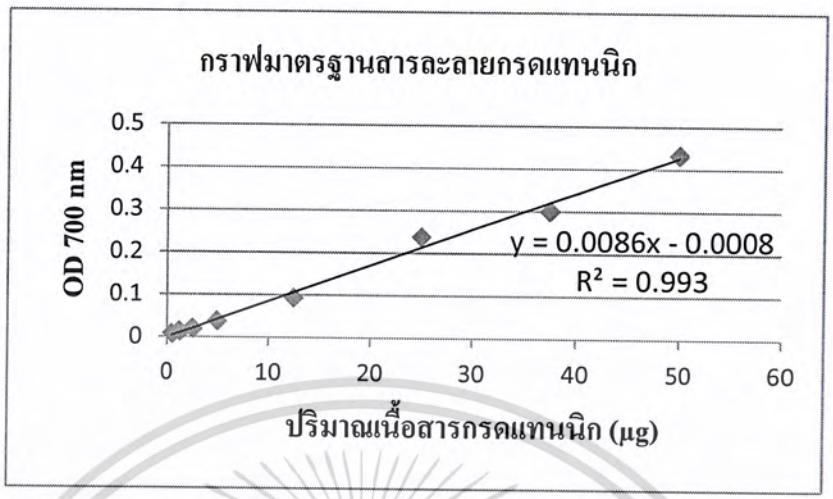
สารละลายปริมาตร 1 ml มีเนื้อสารกรดแทนนิก 750 μg

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.05 ml มีเนื้อสารกรดแทนนิก $\frac{0.05\ \text{ml} \times 750\ \mu\text{g}}{1\ \text{ml}}$

$= 37.5\ \mu\text{g}$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ในการทดลองปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของกรดแทนนิกอยู่ในหลอด เท่ากับ 50, 37.5, 25, 12.5, 5, 2.5, 1.25 และ 0.5 ไมโครกรัมตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิกในหน่วยไมโครกรัม ได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป กราฟมาตรฐานของกรดแทนนิกสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารแทนนินทั้งหมด แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรและปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก (ไมโครกรัม)

ตัวอย่างที่ 3.1 การคำนวณหาปริมาณสารแทนนินทั้งหมดของสารสกัดองุ่นได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ของสารสกัดองุ่นแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแทนนิก ดังนี้

สารสกัดองุ่น มีค่า A_{700} เท่ากับ 0.023

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแทนนิก

$Y = 0.0086x - 0.0008$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

แทนค่า $0.023 = 0.0086x - 0.0008$

$$X = \frac{0.023+0.0008}{0.0086}$$

$= 2.77$ ไมโครกรัม

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดองุ่นที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัด เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ปริมาณแทนนินในสารสกัด 0.05 mg มีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิกเท่ากับ 2.77 µg

ถ้าสารสกัด 1 mg มีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก $\frac{1\ mg \times 2.77\ \mu g}{0.05\ mg}$ = 55.4 µg

ถ้าสารสกัด 1000 mg มีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก $\frac{1000\ mg \times 2.77\ \mu g}{0.05\ mg}$

= 55,400 µg = 55.4 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดจากองุ่นมีปริมาณสารแทนนินทั้งหมด เท่ากับ 55.4 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

ตัวอย่างที่ 3.2 การคำนวณหาปริมาณสารแทนนินทั้งหมดของน้ำกระชายดำได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ของน้ำกระชายดำแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแทนนิก ดังนี้

น้ำกระชายดำ ที่เจือจาง 10 เท่า มีค่า A_{700} เท่ากับ 0.023

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแทนนิก

Y = 0.0086x - 0.0008

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

แทนค่า 0.023 = 0.0086x - 0.0008

$X = \frac{0.023+0.0008}{0.0086}$

= 2.77 ไมโครกรัม

โดยเครื่องดื่มที่ใช้ในการวิเคราะห์มีการเจือจาง 10 เท่า

จะได้ว่า ในเครื่องดื่มเจือจางปริมาตร 10 ml มีเครื่องดื่มบริสุทธิ์ปริมาตร 1 ml

ดังนั้น ถ้าการวิเคราะห์ใช้เครื่องดื่มปริมาตร 0.05 ml จะมีเครื่องดื่มบริสุทธิ์ปริมาตร 0.005 ml

ในน้ำกระชายดำปริมาตร 0.005 ml มีปริมาณเนื้อสารกรดแทนนิกเท่ากับ 2.77 µg

ถ้าน้ำกระชายดำปริมาตร 100 ml มีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก $\frac{100\ ml \times 2.77\ \mu g}{0.005\ ml}$

= 55,400 µg

เพราะฉะนั้น น้ำกระชายดำมีปริมาณสารแทนนินทั้งหมด เท่ากับ 55,400 ไมโครกรัมของกรดแทนนิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร หรือ 55.4 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การคำนวณสำหรับวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

ในการเตรียมกราฟมาตรฐานของสารเฟอรัสซัลเฟตทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดองุ่นและเครื่องดื่ม ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต ดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร อยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ

สารละลายปริมาตร 1000 ml มีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต 3 mmol

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 ml มีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต $\frac{0.1\ \text{ml} \times 3\ \text{mmol}}{1000\ \text{ml}}$

$= 0.0003$ mmol

<u>สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลต่อลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลต่อลิตร อยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต เท่ากับ

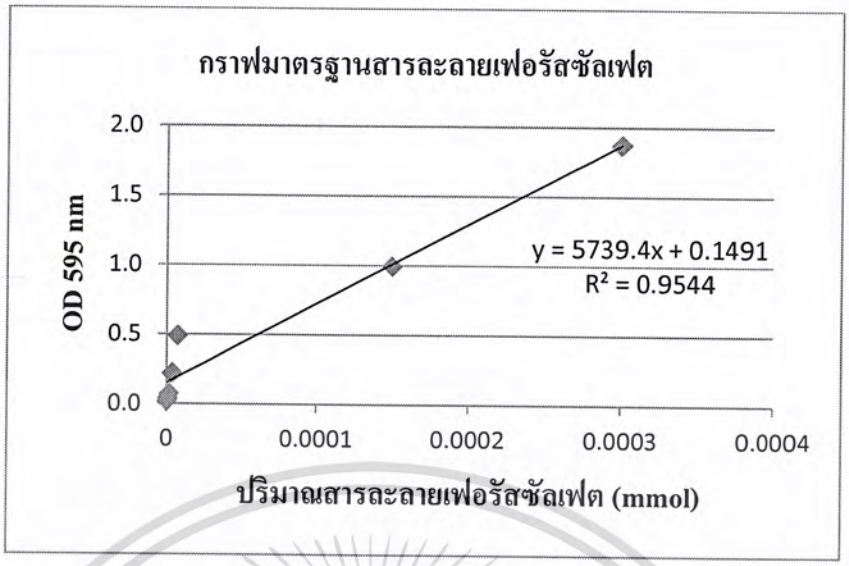
สารละลายปริมาตร 1000 ml มีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต 1.5 mmol

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 0.1 ml มีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต $\frac{0.1\ \text{ml} \times 1.5\ \text{mmol}}{1000\ \text{ml}}$

$= 0.00015$ mmol

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร ใช้ในการทดลองปริมาตร 100 ไมโครลิตร จะมีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตอยู่ในหลอด เท่ากับ 0.3, 0.15, 0.0075, 0.00375, 0.00188, 0.00094 และ 0.00047 ($x10^{-3}$) มิลลิโมลตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตในหน่วยมิลลิโมล ได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป กราฟมาตรฐานสารละลายเฟอรัสซัลเฟตสำหรับการวิเคราะห์หาคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตรและปริมาณสารละลายเฟอรัสซัลเฟต

ตัวอย่างที่ 4.1 การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดองุ่นได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ของสารสกัดองุ่นแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต

สารสกัดองุ่น มีค่า A_{595} เท่ากับ 0.155

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต

$$Y = 5739.4x + 0.1491$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต (มิลลิโมล)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

แทนค่า $0.155 = 5739.4x + 0.1491$

$$X = \frac{0.155-0.1491}{5739.4}$$

$$= 1.03 \times 10^{-6} \text{ มิลลิโมล}$$

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดองุ่นที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร (0.1 มิลลิลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัด เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิโมลของเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้มีไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ในสารสกัด 0.1 mg มีปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ 1.03×10^{-6} mmol

ถ้าสารสกัด 1 mg มีปริมาณเนื้อสารของของเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ 1.03×10^{-5} mmol

ถ้าสารสกัด 1000 mg มีปริมาณเนื้อสารของของเฟอรัสซัลเฟตเท่ากับ 0.01 mmol

เพราะฉะนั้น สารสกัดจากองุ่นมีปริมาณสารเฟอรัสซัลเฟต เท่ากับ 0.01 มิลลิโมลของเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมของสารสกัด

ตัวอย่างที่ 4.2 การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของน้ำกระชายดำได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ของน้ำกระชายดำแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต

น้ำกระชายดำ ที่ทำความเจือจาง 10 เท่า มีค่า A_{595} เท่ากับ 0.328

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต

$$Y = 5739.4x + 0.1491$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต (มิลลิโมล)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

แทนค่า $0.100 = 5739.4x + 0.1491$

$$X = \frac{0.328 - 0.1491}{5739.4}$$

$$= 3.12 \times 10^{-5} \text{ มิลลิโมล}$$

โดยเครื่องดื่มที่ใช้ในการวิเคราะห์มีการเจือจาง 10 เท่า

จะได้ว่า ในเครื่องดื่มเจือจางปริมาตร 10 ml มีเครื่องดื่มบริสุทธิ์ปริมาตร 1 ml

ดังนั้น ถ้าการวิเคราะห์ใช้เครื่องดื่มปริมาตร 0.1 ml จะมีเครื่องดื่มบริสุทธิ์ปริมาตร 0.01 ml

ในน้ำกระชายดำปริมาตร 0.01 ml มีปริมาณเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟต เท่ากับ 3.12×10^{-5} mmol

ถ้าน้ำกระชายดำปริมาตร 100 ml มีปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต เท่ากับ 0.312 mmol

เพราะฉะนั้น น้ำกระชายดำมีปริมาณสารเฟอรัสซัลเฟต ทั้งหมด เท่ากับ 0.312 มิลลิโมลเฟอรัสซัลเฟตต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การคำนวณสำหรับวิธีวัดความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical

การคำนวณความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical สารละลายมาตรฐานที่ใช้คือโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้น 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.5625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดอุ่นและเครื่องดื่ม ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 120 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของโทรล็อกซ์ดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 120 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารโทรล็อกซ์เท่ากับ

สารละลายปริมาตร 1000 µl มีเนื้อสารโทรล็อกซ์ 25 µg

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 120 µl มีเนื้อสารโทรล็อกซ์ $\frac{120\ \mu l \times 25\ \mu g}{1000 \mu l} = 3\ \mu g$

<u>สารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ความเข้มข้น 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

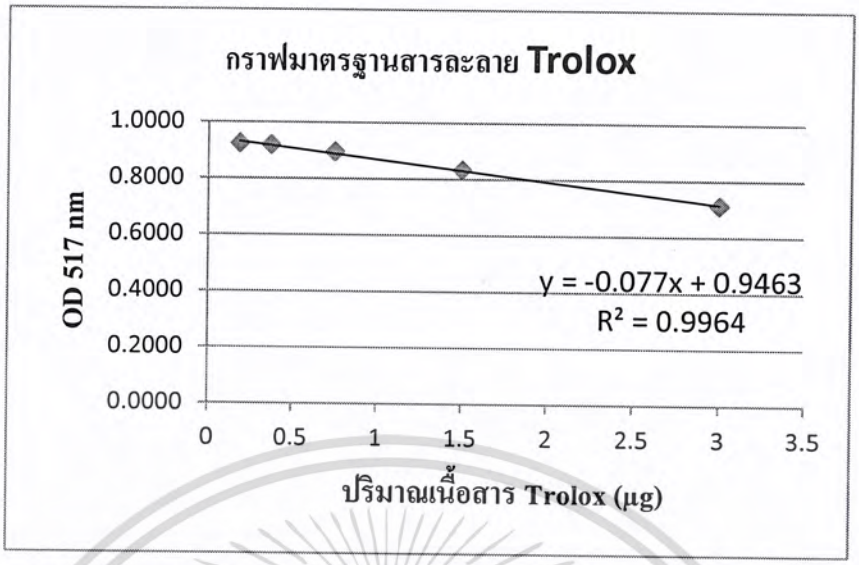
ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ความเข้มข้น 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 120 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารโทรล็อกซ์เท่ากับ

สารละลายปริมาตร 1000 µl มีเนื้อสารโทรล็อกซ์ 12.5 µg

ดังนั้น สารละลายปริมาตร 120 µl มีเนื้อสารโทรล็อกซ์ $\frac{120\ \mu l \times 12.5\ \mu g}{1000 \mu l} = 1.5\ \mu g$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้น 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.5625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ในการทดลองปริมาตร 120 ไมโครลิตร จะมีเนื้อสารของโทรล็อกซ์อยู่ในหลอด เท่ากับ 3, 1.5, 0.75, 0.375 และ 0.1875 ไมโครกรัมตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร กับปริมาณเนื้อสารของโทรล็อกซ์ในหน่วยไมโครกรัม ได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป กราฟมาตรฐานของโทรล็อกซ์สำหรับการวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรและปริมาณเนื้อสารของโทรล็อกซ์ (ไมโครกรัม)

ตัวอย่างที่ 5.1 การคำนวณความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของสารสกัดองุ่นได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของสารสกัดองุ่นแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของโทรล็อกซ์ดังนี้

สารสกัดองุ่น มีค่า A_{517} เท่ากับ 0.930

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของโทรล็อกซ์

$$Y = -0.077x + 0.9463$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของโทรล็อกซ์(ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

แทนค่า $0.930 = -0.077x + 0.9463$

$$X = \frac{0.930-0.9463}{-0.077}$$

$= 0.211$ ไมโครกรัม

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดองุ่นที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในปริมาตร 120 ไมโครลิตร หรือ 0.12 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัด เท่ากับ 0.12 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ในสารสกัด 0.12 mg มีปริมาณเนื้อสารของโทรล็อกซ์เท่ากับ 0.211 µg

ถ้าสารสกัด 1000 mg มีปริมาณเนื้อสารโทรล็อกซ์ $\frac{1000\ \text{mg} \times 0.211\ \mu\text{g}}{0.12\ \text{mg}}$

$= 1{,}760\ \mu\text{g} = 1.76\ \text{mg}$

เพราะฉะนั้น สารสกัดจากองุ่นมีปริมาณสารโทรล็อกซ์ทั้งหมด เท่ากับ 1.76 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของสารสกัด

ตัวอย่างที่ 5.2 การคำนวณความสามารถในการกำจัด 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical ของน้ำกระชายดำได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของน้ำกระชายดำแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของโทรล็อกซ์ดังนี้

น้ำกระชายดำ ที่เจือจาง 10 เท่า มีค่า A_{517} เท่ากับ 0.813

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของโทรล็อกซ์

$Y = -0.077x + 0.9463$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของโทรล็อกซ์ (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

แทนค่า $0.813 = -0.077x + 0.9463$

$X = \frac{0.813 - 0.9463}{-0.077}$

$= 1.731$ ไมโครกรัม

โดยเครื่องดื่มที่ใช้ในการวิเคราะห์มีการเจือจาง 10 เท่า

จะได้ว่า ในเครื่องดื่มเจือจางปริมาตร 10 ml มีเครื่องดื่มบริสุทธิ์ปริมาตร 1 ml

ดังนั้น ถ้าการวิเคราะห์ใช้เครื่องดื่มปริมาตร 120 µl หรือ 0.12 ml จะมีเครื่องดื่มบริสุทธิ์ปริมาตร 0.012 ml

ในน้ำกระชายดำปริมาตร 0.012 ml มีปริมาณเนื้อสารโทรล็อกซ์ เท่ากับ 1.731 µg

ถ้าน้ำกระชายดำปริมาตร 100 ml มีปริมาณเนื้อสารของโทรล็อกซ์ $\frac{100\ \text{ml} \times 1.731\ \mu\text{g}}{0.012\ \text{ml}}$

$= 14{,}425\ \mu\text{g}$

เพราะฉะนั้น น้ำกระชายดำมีปริมาณสารของโทรล็อกซ์ ทั้งหมด เท่ากับ 14,425 ไมโครกรัมของโทรล็อกซ์ต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร หรือ 14.43 มิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

ตัวอย่างที่ 6.1 การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดองุ่น คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ของหลอดควบคุมและหลอดสารสกัดองุ่นแทนค่าลงในสูตรหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ดังนี้

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ AChE} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

หลอด	A_{412}
ควบคุม (control)	0.281
สารสกัดองุ่น (ความเข้มข้น 1 mg/ml)	0.279

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหรือตัวอย่าง

$A_{\text{ควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม (control)

แทนค่าลงในสูตร

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ AChE} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

$$= 100 \times (0.281 - 0.279) / 0.281$$

$$= 0.71$$

เพราะฉะนั้น สารสกัดองุ่นมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส เท่ากับ 0.71

7. การคำนวณ Total acidity

การคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดขององุ่นสด ทำการวิเคราะห์โดยนำองุ่นสดมาปั่นละเอียด ชั่งน้ำ 10 กรัม เติมน้ำกลั่นปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ไตเตรทด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ใช้ฟีนอลทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ค่าที่ได้แสดงในรูปของกรัมของกรดทาร์ทาริกต่อ 100 มิลลิลิตร ดังนี้

$$\text{g tartaric acid /100 mL} = \text{mL NaOH} \times \text{molarity} \times 0.075 \times (100/\text{sample volume})$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ 7.1

ตัวอย่างองุ่นสด	ปริมาตร NaOH (mL) ที่ใช้
1	5.0
2	4.9
3	4.9
เฉลี่ย	4.9333

จากสูตร g tartaric acid /100 mL = mL NaOH x molarity x 0.075 x (100/sample volume)

ml NaOH คือ ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท

molarity คือ ความเข้มข้นของ NaOH ที่ใช้ (โมลาร์)

sample volume คือ ปริมาตรของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

แทนค่าในสูตร = 4.933 x 0.1 x 0.075 x (100/10)

= 0.37

ดังนั้น องุ่นสดมีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ 0.37 g tartaric acid /100 mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี *In vivo*

วิธีการทดลอง

การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ *In vivo* ดัดแปลงจากวิธีการของ Stefenon และคณะ (2010). ได้โดยใช้เซลล์ของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 โดยนำเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร YMB ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เติมเครื่องดื่มร้อยละ 10 ของปริมาตรเซลล์ยีสต์ และเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (75 มิลลิโมล) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นตรวจหาจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตในตัวอย่างที่เติมเครื่องดื่มและตัวอย่างควบคุม (ไม่เติมเครื่องดื่มและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์) ด้วยเทคนิค Spiral plate บนอาหาร YMA นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการนับโคโลนีเพื่อคำนวณหาจำนวนเซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตในแต่ละตัวอย่าง (CFU ต่อมิลลิลิตร) แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาร้อยละของปริมาณการรอดชีวิต (% Survival) โดยเปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์ในหลอดควบคุมซึ่งมีการอยู่รอดคิดเป็นร้อยละ 100

ผลการทดลอง

ตารางที่ ง.1 ร้อยละของปริมาณการรอดชีวิตของเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5019

ตัวอย่างเครื่องดื่ม	% Survival
เครื่องดื่มสมุนไพรผสมพาสเจอร์ไรส์	
B_1	4.62
B_2	9.27
B_3	9.56
B_4	8.15
B_5	1.77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.1 ร้อยละของปริมาณการรอดชีวิตของเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5019 **(ต่อ)**

ตัวอย่างเครื่องดื่ม	% Survival
ไวน์องุ่นผสมน้ำสมุนไพรที่ผ่านการหมักพร้อมกากสมุนไพรและผ่านการหมักแยกกากสมุนไพร	
W_1 (พร้อมกาก)	2.67
(แยกกาก)	5.04
W_2 (พร้อมกาก)	8.96
(แยกกาก)	6.04
W_3 (พร้อมกาก)	13.27
(แยกกาก)	10.19
W_4 (พร้อมกาก)	9.85
(แยกกาก)	11.00
W_5	15.96
ไม่เติมเครื่องดื่ม	5.15

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในระดับเซลล์ เพื่อประเมินกิจกรรมการป้องกันของเครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ เครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่ผ่านการหมักพร้อมกากและเครื่องดื่มที่ผ่านการหมักแยกกาก ในต้านความเสียหายของเซลล์จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เนื่องจากความเสียหายส่วนใหญ่จากการเกิดออกซิเดชันในระบบชีวภาพเกิดจากอนุมูล OH • ซึ่งได้จากปฏิกิริยาระหว่างออกซิเจนและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากการทดลองมีการเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 75 มิลลิโมลาร์ แก่เซลล์ยีสต์ในสภาวะที่มีเครื่องดื่มที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ เครื่องดื่มที่ผ่านการหมักพร้อมกากและเครื่องดื่มที่ผ่านการหมักแยกกาก เปรียบเทียบกับสภาวะที่ไม่มีเครื่องดื่ม (ตารางที่ ง.1) พบว่าสภาวะที่มีไวน์องุ่นมีร้อยละการรอดชีวิตของยีสต์สูงที่สุด (ร้อยละ15.96) สภาวะที่มีเครื่องดื่มสมุนไพรผสมที่หมักพร้อมกากสูตร 3 มีร้อยละของการรอดชีวิตของยีสต์รองลงมา (ร้อยละ 13.27) สำหรับสภาวะที่ไม่มีเครื่องดื่มมีร้อยละการรอดชีวิตเพียงร้อยละ 5.15 แสดงให้เห็นว่าในสภาวะที่มีเครื่องดื่มช่วยให้ยีสต์มีร้อยละการรอดชีวิตที่สูงกว่าสภาวะที่ไม่มีเครื่องดื่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การศึกษากราฟการเจริญของยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5019

วิธีการทดลอง

การทดลองนี้ได้ทำการเขี่ยเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5019 ที่เลี้ยงไว้ในอาหาร YMA มา 1 ลูป ลงในอาหารเหลว YM หลังจากนั้นในไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 3 วัน ซึ่งในระหว่างการบ่มนั้นได้ทำการเก็บตัวอย่างที่ 0, 24, 26, 28, 30, 48, 50, 52, 54, 72, 74, 76 และ 78 ชั่วโมงแล้วนำไปตรวจหาจำนวนเซลล์ของยีสต์ที่มีชีวิตด้วยเทคนิค Spread plate บนอาหาร YMA ซึ่งมีวิธีการโดยละเอียดดังนี้

1. การตรวจหาจำนวนเซลล์ของยีสต์ที่มีชีวิตในอาหาร YMA หลังจากการบ่มที่ 0 ชั่วโมง

1.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจะได้ตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 1:10 หรือ 10^{-1}

1.2 ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจะได้ตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 1:100 หรือ 10^{-2} ทำการเจือจางต่อไปจนได้ระดับความเจือจาง 10^{-4}

1.3 ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} ลงบนจานอาหาร YMA จำนวน 2 จาน ปริมาตรจานละ 0.1 มิลลิลิตร

1.4 ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} ลงบนจานอาหาร YMA จำนวน 2 จาน ปริมาตรจานละ 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการปิเปตต่อไปที่ระดับความเจือจาง 10^{-4}

1.5 เกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วผิวหน้าอาหาร YMA ด้วยแท่งแก้วรูปตัวแอลที่ปราศจากเชื้อ (จุ่มแอลกอฮอล์แล้วลนเปลวไฟทิ้งไว้สัก 2-3 วินาที) คว่ำจานแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

1.6 นับโคโลนีบนจานที่มีจำนวน 25-250 โคโลนี คำนวณในรูป CFU ต่อมิลลิลิตรของตัวอย่าง

2. การตรวจหาจำนวนเซลล์ของยีสต์ที่มีชีวิตในอาหาร YMA หลังจากการบ่มที่ 24-54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมง โดยจะทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางเป็น 10^{-1}- 10^{-9} แต่ใช้ระดับความเจือจาง 4 ระดับความเจือจางสุดท้าย

3. การตรวจหาจำนวนเซลล์ของยีสต์ที่มีชีวิตในอาหาร YMA หลังจากการบ่มที่ 72-76 ชั่วโมง โดยจะทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางลงมาเป็น 10^{-1}- 10^{-6} แต่ใช้ระดับความเจือจาง 4 ระดับความ เจือจางสุดท้าย

4. การตรวจหาจำนวนเซลล์ของยีสต์ที่มีชีวิตในอาหาร YMA หลังจากการบ่มที่ 78 ชั่วโมง โดยจะทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางลงมาเป็น 10^{-1}- 10^{-5}แต่ใช้ระดับความเจือจาง 4 ระดับความเจือจางสุดท้าย

ผลการทดลอง

ตารางที่ จ.1 จำนวนเชื้อ *S. cerevisiae* ที่มีชีวิตทั้งหมดในระหว่างการบ่มที่ 50 ชั่วโมง

ระดับความเจือจาง	จานที่	จำนวนโคโลนี	CFU ต่อมิลลิลิตร	Log CFU ต่อมิลลิลิตร
ที่ 10^{-6}	1	444	4.4×10^{9}	9.64
	2	464	4.6×10^{9}	9.66
ที่ 10^{-7}	1	516	5.1×10^{10}	10.71
	2	292	2.9×10^{10}	10.46
ที่ 10^{-8}	1	316	3.1×10^{11}	11.49
	2	344	3.4×10^{11}	11.53
ที่ 10^{-9}	1	244	2.4×10^{12}	12.38
	2	-	-	-
เฉลี่ย			4.5×10^{11}	10.84

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ.2 จำนวนเชื้อ *S. cerevisiae* ที่มีชีวิตทั้งหมดในระหว่างการบ่มที่ 52 ชั่วโมง

ระดับความเจือจาง	จานที่	จำนวนโคโลนี	CFU ต่อมิลลิลิตร	Log CFU ต่อมิลลิลิตร
ที่ 10^{-6}	1	208	2.1×10^{9}	9.32
	2	180	1.8×10^{9}	9.26
ที่ 10^{-7}	1	152	1.5×10^{10}	10.18
	2	252	2.5×10^{10}	10.40
ที่ 10^{-8}	1	224	2.2×10^{11}	11.34
	2	-	-	-
ที่ 10^{-9}	1	312	3.1×10^{12}	12.49
	2	264	2.6×10^{12}	12.41
เฉลี่ย			8.5×10^{11}	10.77

ตารางที่ จ.3 จำนวนเชื้อ *S. cerevisiae* ที่มีชีวิตทั้งหมดในระหว่างการบ่มที่ 54 ชั่วโมง

ระดับความเจือจาง	จานที่	จำนวนโคโลนี	CFU ต่อมิลลิลิตร	Log CFU ต่อมิลลิลิตร
ที่ 10^{-6}	1	424	4.2×10^{9}	9.62
	2	460	4.6×10^{9}	9.66
ที่ 10^{-7}	1	196	1.9×10^{10}	10.28
	2	232	2.3×10^{10}	10.36
ที่ 10^{-8}	1	292	2.9×10^{11}	11.46
	2	552	5.5×10^{11}	11.74
ที่ 10^{-9}	1	300	3.0×10^{12}	12.48
	2	176	1.7×10^{12}	12.23
เฉลี่ย		424	6.9×10^{11}	10.98

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ.4 จำนวนเชื้อ *S. cerevisiae* ที่มีชีวิตทั้งหมดในระหว่างการบ่มที่ 72 ชั่วโมง

ระดับความเจือจาง	จานที่	จำนวนโคโลนี	CFU ต่อมิลลิลิตร	Log CFU ต่อมิลลิลิตร
ที่ 10^{-3}	1	72	7.2×10^5	5.86
	2	80	8.0×10^5	5.90
ที่ 10^{-4}	1	-	-	-
	2	20	2.0×10^6	6.30
ที่ 10^{-5}	1	-	-	-
	2	-	-	-
ที่ 10^{-6}	1	-	-	-
	2	-	-	-
เฉลี่ย			1.1×10^6	6.02

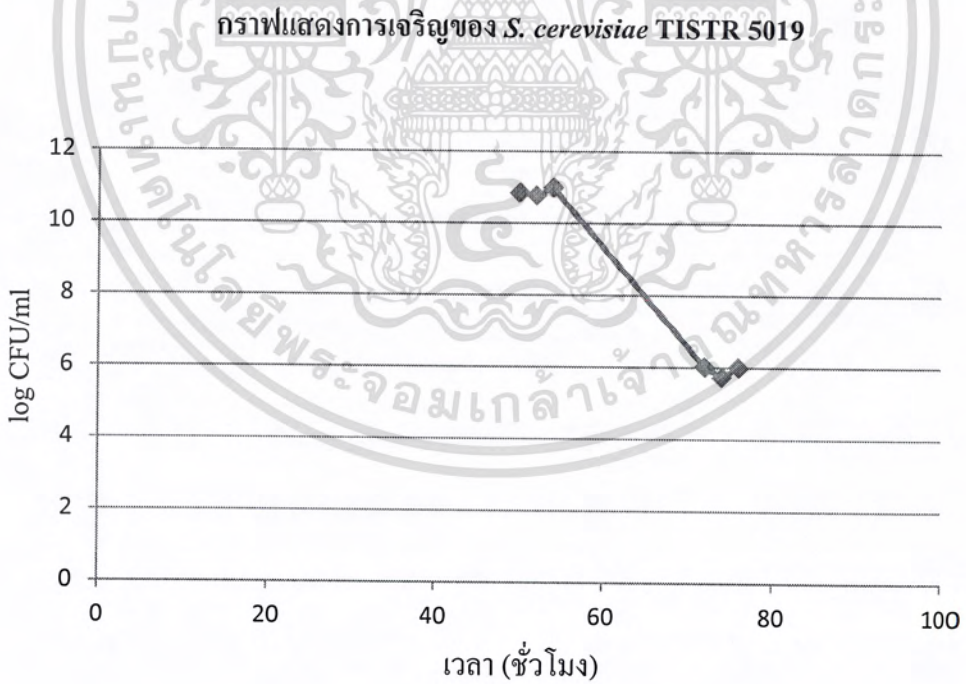
ตารางที่ จ.5 จำนวนเชื้อ *S. cerevisiae* ที่มีชีวิตทั้งหมดในระหว่างการบ่มที่ 74 ชั่วโมง

ระดับความเจือจาง	จานที่	จำนวนโคโลนี	CFU ต่อมิลลิลิตร	Log CFU ต่อมิลลิลิตร
ที่ 10^{-3}	1	52	5.2×10^5	5.72
	2	9	9.0×10^4	4.95
ที่ 10^{-4}	1	13	1.3×10^6	6.11
	2	7	7.0×10^5	5.85
ที่ 10^{-5}	1	1	1.0×10^6	6.00
	2	-	-	-
ที่ 10^{-6}	1	-	-	-
	2	-	-	-
เฉลี่ย			7.2×10^5	5.73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ.6 จำนวนเชื้อ *S. cerevisiae* ที่มีชีวิตทั้งหมดในระหว่างการบ่มที่ 76 ชั่วโมง

ระดับความเจือจาง	จานที่	จำนวนโคโลนี	CFU ต่อมิลลิลิตร	Log CFU ต่อมิลลิลิตร
ที่ 10^{-3}	1	80	8.0×10^5	5.90
	2	72	7.2×10^5	5.86
ที่ 10^{-4}	1	17	1.7×10^6	6.23
	2	6	6.0×10^5	5.78
ที่ 10^{-5}	1	2	2.0×10^6	6.30
	2	-	-	-
ที่ 10^{-6}	1	-	-	-
	2	-	-	-
เฉลี่ย			1.1×10^5	6.01



รูป กราฟแสดงการเจริญของ *S. cerevisiae* TISTR 5019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากกราฟการเจริญ *S. cerevisiae* TISTR 5019 เมื่อเริ่มเก็บตัวอย่างที่ 0 ชั่วโมงพบจำนวนเซลล์น้อยกว่า 10 CFU/ml และชั่วโมงที่ 24, 26, 28, 30 และ 48 ชั่วโมงพบจำนวนเซลล์น้อยกว่า 10^6 CFU/ml แต่เมื่อเก็บตัวอย่างที่บ่มครบ 50, 52 และ 54 ชั่วโมง จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น 10.84 log CFU/ml, 10.77 log CFU/ml และ 10.98 log CFU/ml ตามลำดับ และที่ชั่วโมงที่ 72, 74 และ 76 ชั่วโมง จำนวนเซลล์ลดลงเป็น 6.02 log CFU/ml, 5.73 log CFU/ml และ 6.01 log CFU/ml ตามลำดับ ชี้ให้เห็นว่าในช่วงเวลาที่ 50, 52 และ 54 ชั่วโมง อยู่ในช่วง Stationary phase เพราะยังมีการเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* แต่เมื่อบ่มครบ 72, 74 และ 76 ชั่วโมงจำนวนเซลล์เริ่มลดลงคาดว่าในช่วงเวลาที่ 72 ชั่วโมง อยู่ในช่วง Death phase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์ทางสถิติของสมบัติทางพฤษเคมีในเครื่องดื่ม

1. สมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

ตาราง การวิเคราะห์ทางสถิติของร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในน้ำ สมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
B_1	3	19.3333	1.08454	.62616	16.6392	22.0275	18.15	20.28
B_2	3	14.7100	1.09000	.62931	12.0023	17.4177	13.52	15.66
B_3	3	22.7767	.94113	.54336	20.4388	25.1146	21.71	23.49
B_4	3	22.5400	.73980	.42712	20.7022	24.3778	21.71	23.13
B_5	3	17.4367	.61776	.35667	15.9021	18.9713	17.08	18.15
Total	15	19.3593	3.26981	.84426	17.5486	21.1701	13.52	23.49

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	141.325	4	35.331	42.272	.000
Within Groups	8.358	10	.836		
Total	149.683	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Ducan[a]

Sample	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
B_2	3	14.7100			
B_5	3		17.4367		
B_1	3			19.3333	
B_4	3				22.5400
B_3	3				22.7767
Sig.		1.000	1.000	1.000	.758

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตาราง การวิเคราะห์ทางสถิติของร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W_1 พร้อมกาก	3	18.1500	.71000	.40992	16.3863	19.9137	17.44	18.86
W_1 แยกกาก	3	19.5733	.94113	.54336	17.2354	21.9112	18.86	20.64
W_2 พร้อมกาก	3	21.3533	.35501	.20497	20.4714	22.2352	21.00	21.71
W_2 แยกกาก	3	20.2833	.71501	.41281	18.5072	22.0595	19.57	21.00
W_3 พร้อมกาก	3	19.1000	.20785	.12000	18.5837	19.6163	18.86	19.22
W_3 แยกกาก	3	16.8467	.54446	.31434	15.4942	18.1992	16.37	17.44
W_4 พร้อมกาก	3	19.9267	.35501	.20497	19.0448	20.8086	19.57	20.28
W_4 แยกกาก	3	18.5067	.71501	.41281	16.7305	20.2828	17.79	19.22
W_5 ชุดควบคุม	3	2.8500	.71000	.40992	1.0863	4.6137	2.14	3.56
Total	27	17.3989	5.41445	1.04201	15.2570	19.5408	2.14	21.71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	755.207	8	94.401	242.185	.000
Within Groups	7.016	18	.390		
Total	762.223	26			

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อะซิติล โคลีนเอสเทอเรสในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = .05						
		1	2	3	4	5	6	7
W_5 ชุดควบคุม	3	2.8500						
W_3 แยกกาก	3		16.8467					
W_1 พร้อมกาก	3			18.1500				
W_4 แยกกาก	3			18.5067	18.5067			
W_3 พร้อมกาก	3			19.1000	19.1000	19.1000		
W_1 แยกกาก	3				19.5733	19.5733	19.5733	
W_4 พร้อมกาก	3					19.9267	19.9267	
W_2 แยกกาก	3						20.2833	20.2833
W_2 พร้อมกาก	3							21.3533
Sig.		1.000	1.000	.093	.062	.141	.203	.050

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การยับยั้งอนุมูล DPPH

ตาราง การวิเคราะห์ทางสถิติของการยับยั้งอนุมูล DPPH ในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
B_1	3	15.1500	.66121	.38175	13.5075	16.7925	14.43	15.73
B_2	3	91.1933	.45236	.26117	90.0696	92.3171	90.83	91.70
B_3	3	91.9500	.22338	.12897	91.3951	92.5049	91.70	92.13
B_4	3	93.2500	.16371	.09452	92.8433	93.6567	93.11	93.43
B_5	3	15.6200	.54000	.31177	14.2786	16.9614	15.08	16.16
Total	15	61.4327	38.92550	10.05052	39.8764	82.9889	14.43	93.43

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการ พาสเจอร์ไรส์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	21210.700	4	5302.675	26247.401	.000
Within Groups	2.020	10	.202		
Total	21212.720	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของร้อยละการยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Duncan[a]

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
B_1	3	15.1500		
B_5	3	15.6200		
B_2	3		91.1933	
B_3	3		91.9500	
B_4	3			93.2500
Sig.		.229	.066	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตาราง การวิเคราะห์ทางสถิติของการยับยั้งอนุมูล DPPH ในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W_1 พร้อมกาก	3	22.0367	.12702	.07333	21.7211	22.3522	21.89	22.11
W_1 แยกกาก	3	19.2600	.12124	.07000	18.9588	19.5612	19.19	19.40
W_2 พร้อมกาก	3	66.1933	.16258	.09387	65.7895	66.5972	66.05	66.37
W_2 แยกกาก	3	45.5233	.22502	.12991	44.9644	46.0823	45.27	45.70
W_3 พร้อมกาก	3	95.9933	.06351	.03667	95.8356	96.1511	95.92	96.03
W_3 แยกกาก	3	95.7733	.06351	.03667	95.6156	95.9311	95.70	95.81
W_4 พร้อมกาก	3	87.9467	.22898	.13220	87.3778	88.5155	87.69	88.13
W_4 แยกกาก	3	74.0233	.12702	.07333	73.7078	74.3389	73.95	74.17
W_5 ชุดควบคุม	3	15.7967	.45236	.26117	14.6729	16.9204	15.29	16.16
Total	27	58.0607	31.90520	6.14016	45.4395	70.6820	15.29	96.03

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการยับยั้งอนุมูล DPPH ในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26465.709	8	3308.214	76506.869	.000
Within Groups	.778	18	.043		
Total	26466.488	26			

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการยับยั้งอนุมูล DPPH ในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

Duncan[a]

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = .05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
W_5 ชุดควบคุม	3	15.7967							
W_1 แยกกาก	3		19.2600						
W_1 พร้อมกาก	3			22.0367					
W_2 แยกกาก	3				45.5233				
W_2 พร้อมกาก	3					66.1933			
W_4 แยกกาก	3						74.0233		
W_4 พร้อมกาก	3							87.9467	
W_3 แยกกาก	3								95.7733
W_3 พร้อมกาก	3								95.9933
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.211

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ความสามารถในการรีดิวซ์

ตาราง ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของความสามารถในการรีดิวซ์ในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
B_1	3	.3260	.01852	.01069	.2800	.3720	.31	.35
B_2	3	2.5123	.01290	.00745	2.4803	2.5444	2.50	2.52
B_3	3	4.2200	.00000	.00000	4.2200	4.2200	4.22	4.22
B_4	3	3.3853	.00635	.00367	3.3696	3.4011	3.38	3.39
B_5	3	.2823	.01069	.00617	.2558	.3089	.27	.29
Total	15	2.1452	1.65342	.42691	1.2296	3.0608	.27	4.22

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการรีดิวซ์ในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	38.272	4	9.568	72047.855	.000
Within Groups	.001	10	.000		
Total	38.273	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของความสามารถในการรีดิวซ์ในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Duncan[a]

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
B_5	3	.2823				
B_1	3		.3260			
B_2	3			2.5123		
B_4	3				3.3853	
B_3	3					4.2200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตาราง การวิเคราะห์ทางสถิติของความสามารถในการรีดิวซ์ในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W_1 พร้อมกาก	3	.4430	.01039	.00600	.4172	.4688	.44	.46
W_1 แยกกาก	3	.3673	.00764	.00441	.3484	.3863	.36	.37
W_2 พร้อมกาก	3	1.2753	.01779	.01027	1.2312	1.3195	1.26	1.29
W_2 แยกกาก	3	.9693	.00808	.00467	.9493	.9894	.96	.97
W_3 พร้อมกาก	3	3.5743	.05179	.02990	3.4457	3.7030	3.53	3.63
W_3 แยกกาก	3	3.1860	.03407	.01967	3.1014	3.2706	3.16	3.23
W_4 พร้อมกาก	3	2.1427	.05260	.03037	2.0120	2.2733	2.09	2.19
W_4 แยกกาก	3	1.2103	1.01181	.58417	-1.3031	3.7238	.04	1.80
W_5 ชุดควบคุม	3	.3527	.13070	.07546	.0280	.6773	.27	.50
Total	27	1.5023	1.19565	.23010	1.0294	1.9753	.04	3.63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการรีดิวซ์ในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35.073	8	4.384	37.650	.000
Within Groups	2.096	18	.116		
Total	37.169	26			

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของความสามารถในการรีดิวซ์ในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

Duncan[a]

ตัวอย่าง	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
W_5 ชุดควบคุม	3	.3527			
W_1 แยกกาก	3	.3673			
W_1 พร้อมกาก	3	.4430			
W_2 แยกกาก	3	.9693	.9693		
W_4 แยกกาก	3		1.2103		
W_2 พร้อมกาก	3		1.2753		
W_4 พร้อมกาก	3			2.1427	
W_3 แยกกาก	3				3.1860
W_3 พร้อมกาก	3				3.5743
Sig.		.055	.312	1.000	.180

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ตาราง ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
B_1	3	50.8200	.71014	.41000	49.0559	52.5841	50.00	51.23
B_2	3	262.7567	2.56605	1.48151	256.3822	269.1311	259.88	264.81
B_3	3	494.4433	2.46500	1.42317	488.3199	500.5667	491.98	496.91
B_4	3	330.2500	2.47000	1.42606	324.1142	336.3858	327.78	332.72
B_5	3	31.8933	2.47000	1.08791	27.2124	36.5742	30.25	33.95
Total	15	234.0327	180.67668	46.65052	133.9773	334.0881	30.25	496.91

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	456971.250	4	114242.813	25034.911	.000
Within Groups	45.633	10	4.563		
Total	457016.883	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
B_5	3	31.8933				
B_1	3		50.8200			
B_2	3			262.7567		
B_4	3				330.2500	
B_3	3					494.4433
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตาราง ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W_1 พร้อมกาก	3	61.11	1.235	.713	58.05	64.18	60	62
W_1 แยกกาก	3	37.65	1.235	.713	34.59	40.72	36	39
W_2 พร้อมกาก	3	104.73	1.884	1.088	100.05	109.41	103	107
W_2 แยกกาก	3	74.69	1.235	.713	71.63	77.76	73	76
W_3 พร้อมกาก	3	239.71	2.570	1.484	233.33	246.09	238	243
W_3 แยกกาก	3	203.91	1.889	1.090	199.22	208.60	202	206
W_4 พร้อมกาก	3	209.26	1.235	.713	206.19	212.32	208	210
W_4 แยกกาก	3	129.84	1.884	1.088	125.16	134.52	128	131
W_5 ชุดควบคุม	3	27.78	1.235	.713	24.71	30.84	27	29
Total	27	120.96	76.321	14.688	90.77	151.16	27	243

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	151398.085	8	18924.761	6840.348	.000
Within Groups	49.799	18	2.767		
Total	151447.884	26			

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = .05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
W_5 ชุดควบคุม	3	27.78								
W_1 แยกกาก	3		37.65							
W_1 พร้อมกาก	3			61.11						
W_2 แยกกาก	3				74.69					
W_2 พร้อมกาก	3					104.73				
W_4 แยกกาก	3						129.84			
W_3 แยกกาก	3							203.91		
W_4 พร้อมกาก	3								209.26	
W_3 พร้อมกาก	3									239.71
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ตาราง ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
B_1	3	237.11	1.923	1.110	232.33	241.89	236	239
B_2	3	314.33	2.887	1.667	307.16	321.50	311	316
B_3	3	383.22	2.546	1.470	376.90	389.55	381	386
B_4	3	375.45	3.851	2.223	365.88	385.01	371	378
B_5	3	207.67	1.665	.961	203.53	211.80	206	209
Total	15	303.56	73.580	18.998	262.81	344.30	206	386

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	75723.414	4	18930.854	2621.193	.000
Within Groups	72.222	10	7.222		
Total	75795.636	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
B_5	3	207.67				
B_1	3		237.11			
B_2	3			314.33		
B_4	3				375.45	
B_3	3					383.22
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตาราง ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W_1 พร้อมกาก	3	285.4433	.96417	.55667	283.0482	287.8385	284.33	286.00
W_1 แยกกาก	3	238.2233	.95840	.55333	235.8425	240.6041	237.67	239.33
W_2 พร้อมกาก	3	382.6667	1.66500	.96129	378.5306	386.8028	381.00	384.33
W_2 แยกกาก	3	257.6633	2.88675	1.66667	250.4922	264.8344	254.33	259.33
W_3 พร้อมกาก	3	372.6667	1.66500	.96129	368.5306	376.8028	371.00	374.33
W_3 แยกกาก	3	317.6667	3.33500	1.92546	309.3821	325.9513	314.33	321.00
W_4 พร้อมกาก	3	372.1100	1.92258	1.11000	367.3341	376.8859	371.00	374.33
W_4 แยกกาก	3	338.2233	2.54551	1.46965	331.8999	344.5467	336.00	341.00
W_5 ชุดควบคุม	3	196.0000	1.67000	.96417	191.8515	200.1485	194.33	197.67
Total	27	306.7404	63.85817	12.28951	281.4789	332.0018	194.33	384.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	105944.885	8	13243.111	2993.693	.000
Within Groups	79.626	18	4.424		
Total	106024.511	26			

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = .05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
W_5 ชุดควบคุม	3	196.0000							
W_1 แยกกาก	3		238.2233						
W_2 แยกกาก	3			257.6633					
W_1 พร้อมกาก	3				285.4433				
W_3 แยกกาก	3					317.6667			
W_4 แยกกาก	3						338.2233		
W_4 พร้อมกาก	3							372.1100	
W_3 พร้อมกาก	3							372.6667	
W_2 พร้อมกาก	3								382.6667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.750	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด

ตาราง การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
B_1	3	56.1233	3.55368	2.05172	47.2955	64.9512	53.02	60.00
B_2	3	257.6733	2.32500	1.34234	251.8977	263.4490	255.35	260.00
B_3	3	338.2967	3.55368	2.05172	329.4688	347.1245	334.42	341.40
B_4	3	261.5500	3.55477	2.05235	252.7195	270.3805	257.67	264.65
B_5	3	45.2733	3.54931	2.04920	36.4563	54.0903	41.40	48.37
Total	15	191.7833	122.98181	31.75377	123.6783	259.8884	41.40	341.40

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	211631.557	4	52907.889	4732.629	.000
Within Groups	111.794	10	11.179		
Total	211743.351	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
B_5	3	45.2733			
B_1	3		56.1233		
B_2	3			257.6733	
B_4	3			261.5500	
B_3	3				338.2967
Sig.		1.000	1.000	.186	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตาราง การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W_1 พร้อมกาก	3	52.2467	3.55368	2.05172	43.4188	61.0745	48.37	55.35
W_1 แยกกาก	3	42.1733	3.55368	2.05172	33.3455	51.0012	39.07	46.05
W_2 พร้อมกาก	3	71.6267	2.32500	1.34234	65.8510	77.4023	69.30	73.95
W_2 แยกกาก	3	64.6533	2.32500	1.34234	58.8777	70.4290	62.33	66.98
W_3 พร้อมกาก	3	157.6733	2.32500	1.34234	151.8977	163.4490	155.35	160.00
W_3 แยกกาก	3	132.8667	3.54931	2.04920	124.0497	141.6837	129.77	136.74
W_4 พร้อมกาก	3	84.8067	3.55368	2.05172	75.9788	93.6345	80.93	87.91
W_4 แยกกาก	3	77.0533	1.33945	.77333	73.7259	80.3807	76.28	78.60
W_5 ชุดควบคุม	3	34.4167	2.32500	1.34234	28.6410	40.1923	32.09	36.74
Total	27	79.7241	39.45734	7.59357	64.1153	95.3329	32.09	160.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	40331.131	8	5041.391	613.970	.000
Within Groups	147.800	18	8.211		
Total	40478.931	26			

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = .05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
W_5 ชุดควบคุม	3	34.4167								
W_1 แยกกาก	3		42.1733							
W_1 พร้อมกาก	3			52.2467						
W_2 แยกกาก	3				64.6533					
W_2 พร้อมกาก	3					71.6267				
W_4 แยกกาก	3						77.0533			
W_4 พร้อมกาก	3							84.8067		
W_3 แยกกาก	3								132.8667	
W_3 พร้อมกาก	3									157.6733
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ค่าพีเอช

ตาราง การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าพีเอชในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
B_1	3	5.4733	.00577	.00333	5.4590	5.4877	5.47	5.48
B_2	3	4.1033	.00577	.00333	4.0890	4.1177	4.10	4.11
B_3	3	3.4433	.01155	.00667	3.4146	3.4720	3.43	3.45
B_4	3	4.4533	.00577	.00333	4.4390	4.4677	4.45	4.46
B_5	3	3.6067	.00577	.00333	3.5923	3.6210	3.60	3.61
Total	15	4.2160	.74905	.19341	3.8012	4.6308	3.43	5.48

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าพีเอชในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.855	4	1.964	36818.562	.000
Within Groups	.001	10	.000		
Total	7.855	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าพีเอชในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
B_3	3	3.4433				
B_5	3		3.6067			
B_2	3			4.1033		
B_4	3				4.4533	
B_1	3					5.4733
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตาราง การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าพีเอชในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W_1 พร้อมกาก	3	3.9067	.00577	.00333	3.8923	3.9210	3.90	3.91
W_1 แยกกาก	3	3.7333	.00577	.00333	3.7190	3.7477	3.73	3.74
W_2 พร้อมกาก	3	3.7967	.00577	.00333	3.7823	3.8110	3.79	3.80
W_2 แยกกาก	3	3.7367	.00577	.00333	3.7223	3.7510	3.73	3.74
W_3 พร้อมกาก	3	3.6067	.00577	.00333	3.5923	3.6210	3.60	3.61
W_3 แยกกาก	3	3.6367	.00577	.00333	3.6223	3.6510	3.63	3.64
W_4 พร้อมกาก	3	3.9333	.00577	.00333	3.9190	3.9477	3.93	3.94
W_4 แยกกาก	3	3.7767	.00577	.00333	3.7623	3.7910	3.77	3.78
W_5 ชุดควบคุม	3	3.5767	.00577	.00333	3.5623	3.5910	3.57	3.58
Total	27	3.7448	.12004	.02310	3.6973	3.7923	3.57	3.94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าพีเอชในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.374	8	.047	1402.778	.000
Within Groups	.001	18	.000		
Total	.375	26			

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าพีเอชในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

Sample	N	Subset for alpha = .05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
W_1 พร้อมกาก	3	3.5767							
W_1 แยกกาก	3		3.6067						
W_2 พร้อมกาก	3			3.6367					
W_2 แยกกาก	3				3.7333				
W_3 พร้อมกาก	3				3.7367				
W_3 แยกกาก	3					3.7767			
W_4 พร้อมกาก	3						3.7967		
W_4 แยกกาก	3							3.9067	
W_5 ชุดควบคุม	3								3.9333
Sig.		1.000	1.000	1.000	.489	1.000	1.000	1.000	1.000

Duncan[a]

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ปริมาณกรดทั้งหมด

ตาราง การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
B_1	3	.0800	.00000	.00000	.0800	.0800	.08	.08
B_2	3	.4500	.00000	.00000	.4500	.4500	.45	.45
B_3	3	.4767	.04619	.02667	.3619	.5914	.45	.53
B_4	3	.2300	.00000	.00000	.2300	.2300	.23	.23
B_5	3	.3000	.00000	.00000	.3000	.3000	.30	.30
Total	15	.3073	.15224	.03931	.2230	.3916	.08	.53

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.320	4	.080	187.633	.000
Within Groups	.004	10	.000		
Total	.324	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำสมุนไพรผสมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์

Sample	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
B_1	3	.0800			
B_4	3		.2300		
B_5	3			.3000	
B_2	3				.4500
B_3	3				.4767
Sig.		1.000	1.000	1.000	.145

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตาราง การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณกรดทั้งหมดในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
W_1 พร้อมกาก	3	.4500	.00000	.00000	.4500	.4500	.45	.45
W_1 แยกกาก	3	.4267	.04041	.02333	.3263	.5271	.38	.45
W_2 พร้อมกาก	3	.6800	.00000	.00000	.6800	.6800	.68	.68
W_2 แยกกาก	3	.6800	.00000	.00000	.6800	.6800	.68	.68
W_3 พร้อมกาก	3	.6800	.00000	.00000	.6800	.6800	.68	.68
W_3 แยกกาก	3	.6000	.00000	.00000	.6000	.6000	.60	.60
W_4 พร้อมกาก	3	.4500	.00000	.00000	.4500	.4500	.45	.45
W_4 แยกกาก	3	.4500	.00000	.00000	.4500	.4500	.45	.45
W_5 ชุดควบคุม	3	.4500	.00000	.00000	.4500	.4500	.45	.45
Total	27	.5407	.11201	.02156	.4964	.5850	.38	.68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดทั้งหมดในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.323	8	.040	222.418	.000
Within Groups	.003	18	.000		
Total	.326	26			

ตาราง การเปรียบเทียบหลังการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณกรดทั้งหมดในไวน์องุ่นผสมสมุนไพร

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
W_1 แยกกาก	3	.4267		
W_1 พร้อมกาก	3	.4500		
W_4 พร้อมกาก	3	.4500		
W_4 แยกกาก	3	.4500		
W_5 ชุดควบคุม	3	.4500		
W_3 แยกกาก	3		.6000	
W_2 พร้อมกาก	3			.6800
W_2 แยกกาก	3			.6800
W_3 พร้อมกาก	3			.6800
Sig.		.071	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้