



COMPARISON OF CHEMICAL PROPERTIES, ANTIOXIDANT ACTIVITY
AND SENSORY CHARACTERISTICS OF HONEY WINE FROM THREE
DIFFERENT HONEY SOURCES

เปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมี สารต้านอนุมูลอิสระและการทดสอบทาง
ประสาทสัมผัสของไวน์น้ำผึ้งที่มาจากน้ำผึ้งสามแหล่ง

นำเสนอโดย

นางสาวพิมพ์อ่อนงค์ พันธุ์จินดาวรรณ รหัสนักศึกษา 61552008

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและอาหาร ภาควิชาพื้นฐานทั่วไป

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

ปีการศึกษา 2564

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT © 2021 FOOD AND AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
PRINCE OF CHUMPHON CAMPUS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รับที่.....

งานทะเบียนประมวลผล

ฉบับที่.....

ใบรับรองโครงการพิเศษ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

หัวข้อโครงการพิเศษ

เปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมี สารต้านอนุมูลอิสระและการ
ทดสอบทางประสาทสัมผัสของไวน์น้ำผึ้งที่มาจากน้ำผึ้งสามแหล่ง

Project Title

COMPARISON OF CHEMICAL PROPERTIES, ANTIOXIDANT
ACTIVITY AND SENSORY CHARACTERISTICS OF HONEY
WINE FROM THREE DIFFERENT HONEY SOURCES

ชื่อนักศึกษา

นางสาวพิมพ์อนงค์ พันธุ์จินดาวรรณ

รหัสนักศึกษา

61552008

ปริญญา


วิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชา

เทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร.สิริฉัตร ขาวอิน

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.พัชรภรณ์ นาคเทวัญ	
ผศ.ดร.วลัยพร ทองประดับ	
อ.ดร.กมลวรรณ ชูชีพ	
ผศ.ดร.สิริฉัตร ขาวอิน	

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 28 มิถุนายน 2565

หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและอาหาร รับรองแล้ว



(ผศ.ดร.พัชรภรณ์ นาคเทวัญ)

ประธานหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	เปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมี สารต้านอนุมูลอิสระและการทดสอบทาง ประสาทสัมผัสของไวน์น้ำผึ้งที่มาจากน้ำผึ้งสามแหล่ง	
นักศึกษา	พิมพ็องนงค์ พันธุ์จินดาวรรณ	รหัสนักศึกษา 61552008
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต	
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและอาหาร	
ปีการศึกษา	2564	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สิริฉัตร ชาวอิน	

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมี สารต้านอนุมูลอิสระและการทดสอบทางประสาทสัมผัสของไวน์น้ำผึ้งจากน้ำผึ้งสามแหล่งที่ได้จากจังหวัดอุดรธานี จังหวัดชุมพร และน้ำผึ้งตราดอยคำ โดยนำไปวิเคราะห์เปรียบเทียบสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งก่อนการหมัก พบว่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมของน้ำผึ้งดอยคำมีค่า 6.94 mg GAE/g ซึ่งมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงสุด ตามด้วยน้ำผึ้งจังหวัดชุมพรและน้ำผึ้งจังหวัดอุดรธานีมีค่าเท่ากับ 6.67 และ 6.58 mg GAE/g ตามลำดับ สำหรับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งพบว่า น้ำผึ้งจังหวัดอุดรธานีมีค่าดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 9.12 รองลงมาคือน้ำผึ้งจากชุมพรและน้ำผึ้งดอยคำมีค่า IC_{50} 11.23 และ 12.66 ตามลำดับ จากการทดลองหมักไวน์โดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 ใช้เวลาหมัก 22 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทุก 2 วันเพื่อนำไปศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณแอลกอฮอล์ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และค่า pH ในไวน์น้ำผึ้ง พบว่าการเจริญเติบโตของยีสต์จะค่อยๆ ลดลงเป็นไปในทิศทางเดียวกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ หลังการหมักในวันที่ 22 พบว่าไวน์น้ำผึ้งชุมพรมีปริมาณแอลกอฮอล์สูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 11 โดยปริมาตร รองลงมาคือไวน์น้ำผึ้งอุดรและไวน์น้ำผึ้งดอยคำ ส่วนค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดพบว่าไวน์น้ำผึ้งดอยคำมีค่ามากที่สุดรองลงมาคือ ไวน์น้ำผึ้งอุดรและไวน์น้ำผึ้งชุมพร สำหรับค่า pH นั้นไวน์ทั้งสามแหล่งมีค่าค่อนข้างคงที่ในช่วง pH 3 สำหรับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในไวน์น้ำผึ้งหลังการหมัก พบว่าทั้งสองมีค่าลดลงโดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในไวน์ที่หมักจากน้ำผึ้งอุดรมีค่ามากที่สุดคือ 1.73mg GAE/g รองลงมาคือไวน์จากน้ำผึ้งชุมพรและไวน์จากน้ำผึ้งตราดอยคำมีค่า 1.25 และ 0.89 mg GAE/g ตามลำดับ สำหรับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในไวน์จากน้ำผึ้งชุมพรมีค่ามากที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 11.74 รองลงมาคือไวน์จากน้ำผึ้งอุดรและไวน์จากน้ำผึ้งตราดอยคำมีค่า IC_{50} 12.35 และ 12.72 ตามลำดับ จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่งของอาสาสมัครทั้งหมด 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คน พบว่าด้านความพึงพอใจโดยรวมไวน์น้ำผึ้งดอยคำได้รับคะแนนสูงสุด รองลงมาคือไวน์น้ำผึ้ง
อุดรธานีและชุมพรตามลำดับ

คำสำคัญ: ไวน์ น้ำผึ้งชุมพร น้ำผึ้งอุดรธานี น้ำผึ้งดอยคำ และยีสต์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	COMPARISON OF CHEMICAL PROPERTIES, ANTIOXIDANT ACTIVITY AND SENSORY CHARACTERISTICS OF HONEY WINE FROM THREE DIFFERENT HONEY SOURCES	
Student	Pimanong Panjindawan	Code 61552008
Degree	Bachelor of Science	
Major Program	Food and Agricultural Biotechnology	
Academic Year	2021	
Advisor	Asst. Prof. Dr. Sirichat Kaowinn	

ABSTRACT

This research aims to compare the chemical properties, antioxidant activity and sensory characteristics of honey wine from three different honey sources: Udon Thani province, Chumphon province and Doikham natural honey. The experiments were analyzed and compared total phenolic content and antioxidant activity in honey before fermentation process. It was found that the total phenolic content of Doi Kham honey was 6.94 mg GAE/g, which was the highest. Followed by Chumphon honey and Udon Thani honey which were 6.67 and 6.58 mg GAE/g, respectively. The results of antioxidant activity found that honey from Udon Thani province showed the highest activity IC_{50} of 9.12, followed by Chumphon and Doikham natural honey at IC_{50} 11.23 and 12.66, respectively. During the fermentation process by use *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049, samples were took every 2 days for 22 days to investigate yeast growth, reducing sugar, alcohol content, total soluble solid and pH in honey wine. The result showed that yeast growth was slowly decrease in the same pattern of reducing sugar. Chumphon honey wine showed the highest alcohol content of 11% (v/v), followed by Udon honey wine and Doikham natural honey wine at the end of fermentation. The result of amount of total soluble solid of Doikham natural honey wine was the highest, followed by Udon honey wine and Chumphon honey wine. The pH of honey wine from three different sources were stable in the pH around 3. Total phenolic content and antioxidant activity in honey after fermentation process are decrease. Total phenolic content of Udon honey wine was 1.73 mg GAE/g, which was the highest. Followed by Chumphon honey wine and Doikham natural honey which

were 1.25 and 0.89 mg GAE/g, respectively. The results of antioxidant activity after fermentation, Chumphon honey wine showed the highest activity IC_{50} of 11.74, followed by Udon honey wine and Doikham natural honey wine at IC_{50} 12.35 and 12.72, respectively. Average scores of sensory evaluation from 50 volunteers, found that Doikham natural honey wine had highest overall acceptance, followed Udon Thani honey wine and Chumphon honey wine, respectively.

Keywords: Mead, Chumphon Honey, Udon Thani Honey, Doikham natural honey, Yeast



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเรื่อง “เปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมี สารต้านอนุมูลอิสระและการทดสอบทางประสาทสัมผัสของไวน์น้ำผึ้งที่มาจากน้ำผึ้งสามแหล่ง” ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความเมตตากรุณา ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ความกรุณาจากอาจารย์ ผศ.ดร.สิริฉัตร ชาวอิน อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยนี้ที่กรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาให้แก่ผู้วิจัย ที่ให้การสนับสนุนทั้งทางด้านกำลังร่างกาย กำลังใจรวมทั้งสละเวลาช่วยเหลือ ให้คำปรึกษาและคำแนะนำทางวิชาการ และเทคนิคการปฏิบัติโครงการพิเศษได้แก่ใจ ให้ข้อคิดเกี่ยวกับกระบวนการทำงาน และกระบวนการวิเคราะห์ในการดำเนินโครงการวิจัยนี้ ทำให้ผู้เขียนได้รับข้อมูลที่ครบถ้วนและได้ข้อมูลที่ถูกต้อง ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่งจนกระทั่งโครงการวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์ประจำหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและอาหารทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำ และข้อคิดเห็นสำหรับการทำโครงการพิเศษครั้งนี้

ขอขอบพระคุณนางสาวศิริขวัญ สุตวัตแก้ว เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและอาหารที่อนุเคราะห์ ให้ความช่วยเหลือสารเคมีและเครื่องมือที่ใช้ในการทำโครงการพิเศษครั้งนี้

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ของผู้ศึกษา ที่คอยอยู่เคียงข้างกันเสมอมา คอยให้กำลังใจ คอยอบรมสั่งสอน ให้ความรักความใส่ใจให้ การสนับสนุน และคอยช่วยเหลือในทุกด้านต่อการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อนในหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและอาหารทุกคน ที่คอยให้ความช่วยเหลือ ให้การสนับสนุน ให้กำลังใจซึ่งกันและกัน ตลอดการทำงานในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและอาหาร

พิมพ์อนงค์ พันธุ์จินดาวรรณ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	I
ABSTRACT	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญรูป	VIII
สารบัญตาราง	IX
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 บทตรวจเอกสาร	3
2.1 น้ำผึ้ง	3
2.2 สารประกอบฟีนอลิก	4
2.3 อนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระ	6
2.4 ยีสต์	7
2.5 การหมัก	8
2.6 น้ำตาลรีดิวซ์	9
2.7 ความเป็นกรด - ต่าง	11
2.8 Ebulliometer	11
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	13
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	13
3.2 วิธีการทดลอง	14
บทที่ 4 ผลและอภิปรายผลการทดลอง	18
4.1 การศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง	18
4.2 การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ในน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง	19
4.3 การศึกษาการเจริญเติบโตของ ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5049 ใน ไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง	26
4.4 การศึกษาค่า pH ในไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง	27
4.6 การศึกษาหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.7 การศึกษาปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง	29
4.8 ศึกษาการเจริญเติบโตของยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5049 เปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ที่ผลิตได้	30
4.9 ศึกษาการเจริญเติบโตของยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5049 เปรียบเทียบกับน้ำตาลรีดิวซ์	31
4.10 ศึกษาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์	32
4.11 การศึกษาปริมาณกรดทั้งหมด	33
4.12 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของไวน์น้ำผึ้งทั้งสามชนิด	34
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	36
5.1 สรุปผลการทดลอง	36
5.2 ข้อเสนอแนะ	37
เอกสารอ้างอิง	38
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์	40
ภาคผนวก ข แบบประเมินความพึงพอใจ	46
ประวัติการศึกษา	47

สารบัญรูป

ภาพที่	หน้า
2.1 น้ำผึ้ง	2
2.2 โครงสร้างสารประกอบฟีนอล	3
2.3 DPPHเมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ	6
2.4 ยีสต์	7
2.5 น้ำตาลรีดิวซ์	8
2.6 ปฏิกิริยาของ 3,5-dinitrosalicylic acid	9
2.7 ลักษณะของเครื่องอูบูลิโอมิเตอร์	10
4.1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก	18
4.2 กราฟเปอร์เซ็นต์ยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของกรดแอสคอร์บิก	20
4.3 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของยีสต์	21
4.4 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อกับค่าความหวานและค่า pH	22
4.5 แบบสำรวจความพึงพอใจต่อไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง	23
4.6 กราฟเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งอุดรธานีหลังกระบวนการหมัก	23
4.7 กราฟเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งตราดอยคำก่อนกระบวนการหมัก	24
4.8 กราฟเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งตราดอยคำหลังกระบวนการหมัก	25
4.9 การเจริญเติบโตของยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5049 ในไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง	26
4.10 กราฟแสดงค่า pH ของไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง	27
4.11 กราฟแสดงค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (%Brix) ของน้ำผึ้งทั้ง 3 แหล่ง	28
4.12 กราฟแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง	29
4.13 กราฟแสดงปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง	30
4.14 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5049 เปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์	31
4.15 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5049 เปรียบเทียบกับน้ำตาลรีดิวซ์	32
4.16 กราฟแสดงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์	33
4.17 กราฟแสดงความพึงพอใจต่อไวน์น้ำผึ้งทั้งสามชนิด	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 สารประกอบฟีนอลิกรวมในน้ำฝิ่งก่อนกระบวนการหมัก	19
4.2 สารประกอบฟีนอลิกรวมในน้ำฝิ่งหลังกระบวนการหมัก	19
4.3 เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำฝิ่งชุมพรก่อนกระบวนการหมัก	21
4.4 เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำฝิ่งชุมพรหลังกระบวนการหมัก	21
4.5 เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำฝิ่งอุดรธานีก่อนกระบวนการหมัก	22
4.6 เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำฝิ่งอุดรธานีหลังกระบวนการหมัก	23
4.7 เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำฝิ่งตราดอยคำก่อนกระบวนการหมัก	24
4.8 เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำฝิ่งตราดอยคำหลังกระบวนการหมัก	25
4.9 ตารางเปรียบเทียบค่า IC_{50} ของวิตามินซีกับน้ำฝิ่งแต่ละชนิด	25
4.10 ปริมาณกรดทั้งหมด	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

น้ำผึ้ง คือสารให้ความหวานที่เกิดจากน้ำหวานของดอกไม้ และรวมถึงแหล่งน้ำหวานอื่นๆ ที่ผึ้งนำมาเก็บสะสมไว้ และผ่านขั้นตอนการแปรสภาพทางเคมีและกายภาพจนกลายเป็นของเหลวข้นสีเหลืองอ่อนจนถึงสีน้ำตาล มีกลิ่นเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตามแหล่งกำเนิด น้ำผึ้งประกอบด้วยน้ำตาลฟรุกโตส น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลซูโครส ที่ร่างกายสามารถดูดซึมได้ง่าย และเนื่องจากน้ำผึ้งมีความเข้มข้นสูงมากจึงทำให้เชื้อจุลินทรีย์ต่างๆไม่สามารถเจริญเติบโตได้ จึงทำให้สามารถเก็บไว้ได้นานโดยไม่บูดไม่เสีย อีกทั้งในน้ำผึ้งยังมีสรรพคุณ ลดการอักเสบ บำรุงร่างกายให้มีความสดชื่น เพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิว เพิ่มความกระจ่างใสบริเวณใบหน้า ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ลดสิวได้ เป็นเพราะในน้ำผึ้งมีสารต้านอนุมูลอิสระจำพวกสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ซึ่งช่วยในเรื่องของการลดอนุมูลอิสระในร่างกาย และชะลอความเสื่อมถอยของเซลล์

น้ำผึ้งมีประวัติการบริโภคของมนุษย์มาอย่างยาวนานและในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ที่ได้จากน้ำผึ้งได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก น้ำผึ้งถูกใช้เป็นส่วนประกอบอาหารและเครื่องดื่มหลายชนิด เช่น ชาน้ำผึ้ง น้ำผึ้งมะนาว ใช้เป็นไซรัปสำหรับผู้ที่ต้องการหลีกเลี่ยงน้ำตาลทราย อีกทั้งยังมีการนำน้ำผึ้งไปผสมกับสมุนไพรบางตัวเพื่อให้มีรสชาติหวานรับประทานได้ง่าย เช่น น้ำผึ้งกับว่านหางจระเข้ และเก๊กฮวย น้ำผึ้งกับขมิ้น พริกไทย และอบเชย (ภานุก, 2563) เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่ น้ำผึ้ง และส่งเสริมการพัฒนาเศรษฐกิจของอุตสาหกรรมการเลี้ยงผึ้ง ทางผู้จัดทำสนใจศึกษาการผลิตไวน์น้ำผึ้ง (Mead) ซึ่งเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่มีรสชาติหวาน ในบทความงานวิจัยนี้ผู้จัดทำมีความสนใจเกี่ยวกับสารประกอบฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งที่นำไปผลิตไวน์ทั้งก่อนและหลังการหมัก อีกทั้งยังสนใจศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและรสชาติไวน์ที่ได้จากการหมักน้ำผึ้งสามแหล่งที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำผึ้งจากจังหวัดชุมพร น้ำผึ้งจากจังหวัดอุดรธานี และน้ำผึ้งตราดอยคำที่หาได้ทั่วไป เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปต่อยอดในการพัฒนาไวน์น้ำผึ้งในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1. ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งก่อนและหลังการหมักจากน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

1.2.2. ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีที่ได้จากการหมักน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

1.2.3. ศึกษารสชาติไวน์ที่ได้จากการหมักน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

- 1.3.1. ประเมินปริมาณสารฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งและไวน์ที่ได้จากการหมักน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง
- 1.3.2. ประเมินคุณสมบัติทางเคมีจากการหมักน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง
- 1.3.3. ประเมินรสชาติไวน์ที่ได้จากการหมักน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1. ทราบข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับการเลือกน้ำผึ้งในการนำมาผลิตไวน์น้ำผึ้ง เพื่อที่จะได้นำไปต่อยอดในการพัฒนาไวน์น้ำผึ้งในระดับอุตสาหกรรมต่อไป
- 1.4.2. เพิ่มมูลค่าให้แก่ น้ำผึ้งและส่งเสริมอุตสาหกรรมการเลี้ยงผึ้ง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

บทตรวจเอกสาร

2.1 น้ำผึ้ง

2.1.1 น้ำผึ้ง

น้ำผึ้ง (honey) เป็นสารให้ความหวาน (sweetener) จากดอกไม้ และแหล่งอื่น ๆ ที่ผึ้งงานนำมาเก็บไว้ ซึ่งผ่านกระบวนการการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมี จากนั้นจึงนำไปเก็บไว้ ผึ้งงานจะทำการเก็บน้ำหวานจากดอกไม้ลงสู่กระเพาะน้ำหวาน จากนั้นเอนไซม์จากต่อมน้ำลายของผึ้งจะขับออกมาทำปฏิกิริยาเคมีกับน้ำหวานจนได้เป็นน้ำตาลกลูโคส (glucose) และฟรุกโทส (fructose) ซึ่งเป็นน้ำตาลอินเวอร์ต (invert sugar) ได้แก่ น้ำตาลลิซูโลส เดกซ์โทรส (dextrose) และมอลโทส (maltose)

2.1.2 กระบวนการผลิตน้ำผึ้ง

ผึ้งจะทำการเปลี่ยนน้ำหวานเป็นน้ำผึ้งด้วยการผสมกับน้ำลายในกระเพาะ จากนั้นเมื่อถึงรังจะขยอน้ำหวานออกมาเก็บไว้ในแหล่งอาหารหลักของรัง (honeycomb) จากนั้นผึ้งจะสร้างขี้ผึ้งจากเศษเกสรดอกไม้และน้ำเมือก โดยจะเก็บของเหลวจากการขยอนลงในฐานหกเหลี่ยม และปิดไว้ด้วย ขี้ผึ้งอ่อน

2.1.3 ส่วนประกอบของน้ำผึ้ง (อภิญา, 2559)

2.1.3.1 ความชื้นไม่เกิน 21%

2.1.3.2 น้ำตาล น้ำตาลฟรุกโทส (fructose) และเดกซ์โทรส (dextrose) ที่ผึ้งย่อยสลายจากน้ำตาลซูโครส (sucrose) ในน้ำหวานออกมาเป็นน้ำตาลทั้งสองชนิดนี้ ซึ่งน้ำตาลทั้งสองเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ที่เมื่อรับเข้าไปในร่างกายจะส่งผลให้ร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้ได้โดยไม่ต้องย่อย

2.1.3.3 กรด กรดที่พบในน้ำผึ้งได้แก่ กรดแอสติก (acetic acid) กรดซิตริก (citric acid) กรดฟอร์มิก (formic acid) กรดซัคซินิก (succinic acid) และกรดมาลิก (malic acid) โดยกรดที่สำคัญที่สุดในน้ำผึ้งคือ กรดกลูโคนิก (gluconic acid) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลเดกซ์โทรส (dextrose) นอกจากนี้ในน้ำผึ้งยังมีกรดอะมิโน (amino acid) ถึง 16 ชนิด และกรดอินทรีย์ (mineral acid) ที่พบในน้ำผึ้งได้แก่ กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) และกรดเกลือ (hydrochloric acid)

2.1.3.4 แร่ธาตุในน้ำผึ้ง ได้แก่ แคลเซียม (calcium) โพแทสเซียม (potassium) ฟอสฟอรัส (phosphorus) แมกนีเซียม (magnesium) โซเดียม (sodium) สังกะสี (zinc) เหล็ก (iron) แมงกานีส (manganese) ทองแดง (copper)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3.5 เอนไซม์ในน้ำผึ้ง เอนไซม์สำคัญที่สุดที่พบ คือ อินเวอร์เทส (invertase) ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลซูโครส (sucrose) ในน้ำหวานของดอกไม้ให้เป็นน้ำตาลเดกซ์โทรส (dextrose) และเอนไซม์ลิวโลส (laevulose) อีกทั้งในน้ำผึ้งมีเอนไซม์ที่สำคัญอีกชนิด คือ อะไมเลส (amylase) เอนไซม์ชนิดอื่นๆ ในน้ำผึ้งมี เอนไซม์แคทาเลส (catalase enzyme) และฟอสฟาเทส (phosphatase)

2.1.3.6 วิตามินในน้ำผึ้ง ได้แก่ ไทแอมีนหรือวิตามิน บี1 (thiamine/vitamin B1) ไรโบฟลาวินหรือวิตามินบี 2 (riboflavin/vitamin B2) กรดแอสคอร์บิกหรือวิตามินซี (ascorbic acid/vitamin C) ไพริดอกซินหรือ วิตามินบี 6 (pyridoxine/vitamin B6) กรดแพนโททิก (pantothenic acid) และกรดนิโคตินิค (nicotinic acid)

2.1.3.7 สารต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้ง จากการค้นพบว่าน้ำผึ้งสามารถบำรุงผิว ช่วยลดริ้วและการอักเสบของผิว เป็นเพราะในน้ำผึ้งมีสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มฟีนอลิกซึ่งช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ และบำรุงผิวพรรณ



ภาพที่ 2.1 น้ำผึ้ง

ที่มา : <https://www.issue247news.com>

2.2 สารประกอบฟีนอลิก

2.2.1 แหล่งที่มา

สารประกอบฟีนอลิก หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารเคมีชนิดหนึ่งที่พืชสร้างขึ้นเพื่อช่วยในเรื่องของการเจริญเติบโต พบได้ในพืชพรรณหลากหลายชนิด เช่น องุ่นแดง สับปะรดอบเชย จะอยู่ร่วมกับโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) โดยน้ำตาลที่พบมากที่สุด คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose)

สารประกอบฟีนอลิกในธรรมชาติที่พบได้มีหลายรูปแบบ และยังมีสูตรโครงสร้างที่แตกต่างกัน โดยมีตั้งแต่กลุ่มที่มีสูตรโครงสร้างง่าย ๆ เช่น กรดฟีนอลิก ไปจนถึงจนถึงกลุ่มที่มีสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งเป็นการศึกษาการเกิดสีโดยอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยสารประกอบฟีนอลิก เกิดปฏิกิริยาในโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) และ Folin-ciocalteu ถูกรีดิวซ์เกิดเป็น สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน และนำไปวิเคราะห์โดยหาค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

2.3 อนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระ

2.3.1 อนุมูลอิสระ (free radicals)

เป็นตัวทำลายภูมิคุ้มกัน และเซลล์ต่าง ๆ ทำให้เกิดความเสื่อมถอยของเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งร่างกายจะแสดงออกมาในรูปแบบของริ้วรอย และโรคความเสื่อมต่าง ๆ (รัชชัย, 2560)

2.3.1.1 สาเหตุที่ทำให้อนุมูลอิสระมีมากขึ้น

- ขาดวิตามิน หรือเกลือแร่
- การรับรังสียูวีมากเกินไป
- มลพิษต่าง ๆ เช่น สารเคมีปนเปื้อน ยาฆ่าแมลง ควันทันจากเครื่องยนต์ และบุหรี่
- อาหารปิ้งย่างที่ไหม้เกรียม
- การใช้งานผลิตภัณฑ์ที่ผสมกับสารเคมีต่าง ๆ
- ความเครียด การพักผ่อนไม่เพียงพอ และการไม่ออกกำลังกาย

2.3.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

เป็นชื่อเรียกของของสารที่ไปจับกับอนุมูลอิสระ และสามารถยับยั้งปฏิกิริยาที่จะเกิดขึ้นได้ เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นปฏิกิริยาทางเคมีที่เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอน (electron) จากสารหนึ่งไปยังสารอีกตัวหนึ่งที่เป็นตัวออกซิไดซ์ (oxidize) ผลจากปฏิกิริยาจะเกิดผลลัพธ์เป็นสารอนุมูลอิสระ (free radical) ทำให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ทำลายเซลล์ในร่างกาย ในจุดนี้ สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าไปจับกับตัวอนุมูลอิสระและยุติปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยจะถูกออกซิไดซ์ออกไปแทน จึงสรุปได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระเป็นตัวรีดิวซ์ เช่น ไรออล (thiol) กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) และโพลีฟีนอล (polyphenol)

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สามารถแบ่งตามกลไกการยับยั้งได้เป็น 3 ชนิด

2.3.2.1 Preventive antioxidant ป้องกันไม่ให้เกิดอนุมูลอิสระ

2.3.2.2 Scavenging antioxidant ทำลายอนุมูลอิสระที่มีอยู่

2.3.2.3 Chain breaking antioxidant ทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่หยุดลง

2.3.3 ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้ และแหล่งที่มา

2.3.3.1 วิตามินซี (Vitamin C) พบมากใน ฝรั่ง ส้ม สับปะรด และผักผลไม้อื่น ๆ

2.3.3.2 วิตามินอี (Vitamin E) พบมากใน ไข่ ถั่ว น้ำมันมะกอก และธัญพืชอื่น ๆ

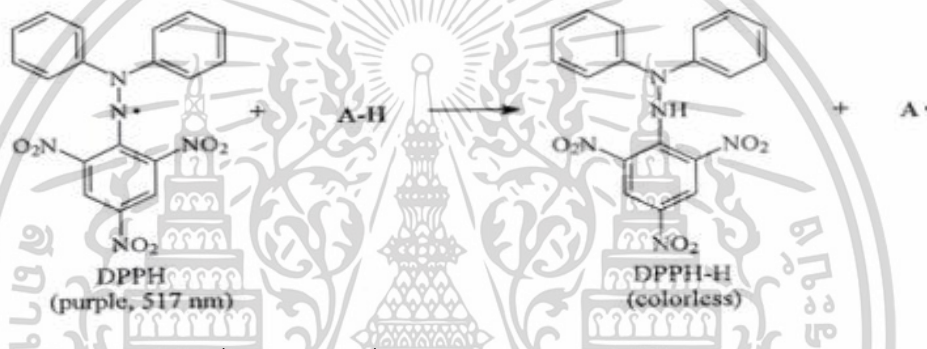
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3.3 กรดแอลฟาไลโปอิก (Alpha Lipoic Acid) พบมากใน มะเขือเทศ มันฝรั่ง เครื่องในสัตว์ เนื้อสัตว์ที่ไม่ติดมัน

2.3.3.4 แอสตาแซนธิน (Astaxanthin) พบมากใน กุ้ง ปู และสัตว์ทะเลอื่น ๆ

2.3.4 การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (วารสารณ, 2554)

วิธี DPPH เป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยศึกษาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH free radical) ของสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งอนุมูลอิสระที่ค่อนข้างเสถียรเมื่ออยู่ในรูปของสารละลายจะมีสีม่วง ดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้สีม่วงจางหายไป



ภาพที่ 2.3 DPPHเมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา : <http://www.crdc.kmutt.ac.th/AgriculturalScienceJournal.files>

2.4 ยีสต์ (พิมพ์เพ็ญ, 2555)

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ ในอาณาจักรฟังไจ (Kingdom Fungi) ยีสต์ (yeast) เป็นเซลล์ยูคาริโอต (Eukaryote) เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวที่มีรูปร่างกลม รูปไข่ มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 5 ไมครอน

2.4.1 การขยายพันธุ์ของยีสต์

ยีสต์มีความสามารถในการขยายพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศ ยีสต์ส่วนใหญ่มักจะขยายพันธุ์ด้วยการแตกหน่อ (budding) แต่จะมียีสต์เพียงบางชนิดเท่านั้นที่ขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศด้วยสปอร์ที่เรียกว่า แอสโคสปอร์ (ascospore) หรือ เบสิดิโอสปอร์ (basidiospore)

2.4.2 ชนิดของยีสต์แบ่งตามการขยายพันธุ์

ยีสต์ที่ขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศอย่างเดียวเรียกว่าดิวิเทอโรไมซีส (deuteromyces) หรือ ยีสต์เทียม ส่วนยีสต์ทั้งจะเป็นยีสต์ที่ขยายพันธุ์ได้ทั้ง 2 แบบ จัดอยู่ในกลุ่มแอสโคไมซีส (ascomyces) เช่น แซคคาโรไมซีส (saccharomyces)

2.4.3 การเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยีสต์เจริญได้ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน โดยเรียกยีสต์ที่เจริญในภาวะที่มีออกซิเจนว่า ออกซิเดทีฟยีสต์ (oxidative yeast) จะเกิดเป็นฟิล์มที่ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ส่วนยีสต์ที่เจริญได้ทั้งภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจนจัดเป็นพวกยีสต์เฟอร์เมนเตทีฟ (fermentative yeast) ซึ่งเจริญเติบโตได้ทุกส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อ

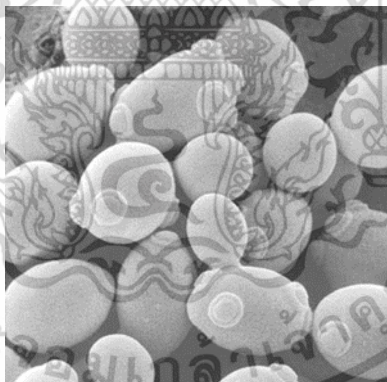
2.4.4 ยีสต์ และความสำคัญของต่ออาหาร

ยีสต์จะใช้แหล่งคาร์บอนในสารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงาน ซึ่งยีสต์จะเจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลสูง เช่น น้ำผึ้ง (honey) แยม (jam) ผลไม้หวาน ๆ โดยสายพันธุ์ของยีสต์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมากที่สุด คือ แซคคาโรไมซิส เซอเวริซิเอ (saccharomyces cerevisiae) ซึ่งยีสต์สายพันธุ์นี้สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์ และคาร์บอนไดออกไซด์ผ่านกระบวนการหมัก (fermentation)

ยีสต์ใช้ในอุตสาหกรรมเบเกอรี่ (bakery) จะเรียกว่า baker yeast ใช้เป็นสิ่งที่ทำให้แป้งมีความขึ้นฟู (leavening agent) ทั้งในเค้ก ขนมปัง และโดนัท โดยยีสต์ที่ใช้จะมี 2 แบบ คืออยู่ในรูปยีสต์สด (active fresh yeast) และยีสต์แห้ง (active dried yeast)

ยีสต์ใช้เพื่อการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (alcoholic beverage) เช่น เบียร์ (beer) ไวน์ (wine) วิสกี้ (wisky) สาโท (wort)

ยีสต์ที่ผลิตขึ้นเพื่อเป็นยีสต์สกัด (yeast extract หรือ yeast autolysate)



ภาพที่ 2.4 ยีสต์

ที่มา : <https://www.foodnetworksolution.com>

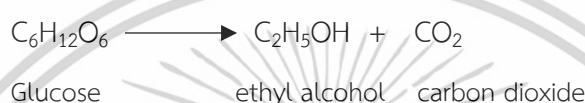
2.5 การหมัก (นิธิยา, 2555)

การหมัก (fermentation) เป็นการถนอมอาหาร (food preservation) ที่ใช้จุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย (bacteria) ยีสต์ (yeast) รา (mold) เป็นเชื้อเริ่มต้น (starter) อาจเป็นเชื้อบริสุทธิ์ เชื้อผสม เช่น ลูกแป้งโคจิ หรือเชื้อที่ปนเปื้อนจากธรรมชาติเปลี่ยนแปลงสารอินทรีย์ในอาหารเกิดเป็นสารต่างๆ เช่น กลิ่น เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) กรดอินทรีย์ (organic acid) คาร์บอนไดออกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(carbon dioxide) การหมักเกิดได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศ (aerobic fermentation) หรือไม่มีอากาศ (anaerobic fermentation) การหมักแบ่งออกเป็น 3 ประเภท

2.5.1 การหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ (alcoholic fermentation) ใช้จุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ (yeast) เช่น แซคคาโรไมซีส เซอเวริซิเอ (saccharomyces cerevisiae) เป็นการหมักน้ำตาลกลูโคส (glucose) เพื่อให้ได้เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide) ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในอุตสาหกรรมอาหารใช้ผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (alcoholic beverage) ได้แก่ เบียร์ (beer) ไวน์ (wine) วอดก้า (vodka) วิสกี้ (whiskey) บรั่นดี (brandy) และใช้ในการหมักขนมปัง (bread) เพื่อให้ขึ้นฟู



2.5.2 การหมักให้เกิดกรดแล็กติก (lactic acid fermentation) ใช้แบคทีเรียที่ผลิตกรดแล็กติก (lactic acid bacteria) ได้แก่ แล็คโตบาซิลลัส (lactobacillus) แลคโตคอคคัส (Lactococcus) และลิวโคโนสตอก (leuconostoc) หมักให้เกิดกรดแล็กติก (lactic acid) วัตถุดิบเป็นน้ำตาลแล็กโทส (lactose) ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน หรือมีออกซิเจนน้อยในอุตสาหกรรมอาหาร การหมักประเภทนี้เพื่อผลิตอาหาร

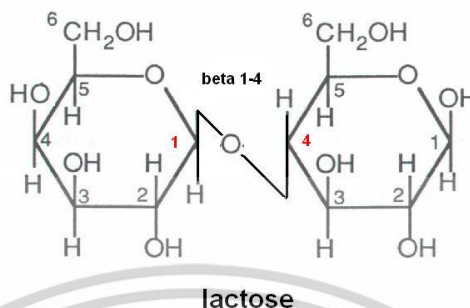
2.5.3 การหมักให้เกิดกรดอะซิติก (acetic acid fermentation) ใช้แบคทีเรียในกลุ่มกรดอะซิติก (acetic acid bacteria) เช่น อะซิโตแบคเตอร์ (acetobacter) สามารถออกซิไดส์เอทิลแอลกอฮอล์ (oxidizes ethyl alcohol) ให้เป็นกรดอะซิติก (acetic acid) ในสภาวะที่มีอากาศ ในอุตสาหกรรมอาหารใช้เพื่อการผลิตน้ำส้มสายชู (vinegar)



2.6 น้ำตาลรีดิวซ์

น้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) คือน้ำตาลในหมู่แอลดีไฮด์ (aldehyde) หรือ คีโตน (ketone) เป็นอิสระที่อยู่ในโมเลกุลของน้ำตาล ถูกออกซิไดซ์ง่ายด้วยตัวออกซิไดซ์อย่างอ่อน ตัวอย่างของน้ำตาลกลุ่มนี้ได้แก่ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวทุกชนิดเช่น น้ำกลูโคส (glucose) น้ำตาลกาแล็กโทส (galactose) น้ำตาลฟรักโทส (fructose) และน้ำตาลโมเลกุลคู่บางชนิด เช่น น้ำตาลแล็กโทส (lactose) และน้ำตาลมอลโทส (maltose)

โดยก่อนการหมักแอลกอฮอล์จะมีการตรวจสอบน้ำตาล เพื่อดูความหวานที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของยีสต์ ซึ่งปริมาณความหวานที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์จะอยู่ในช่วงความหวานที่ 19 ถึง 21



ภาพที่ 2.5 น้ำตาลรีดิวิซ

ที่มา : <https://www.foodnetworksolution.com>

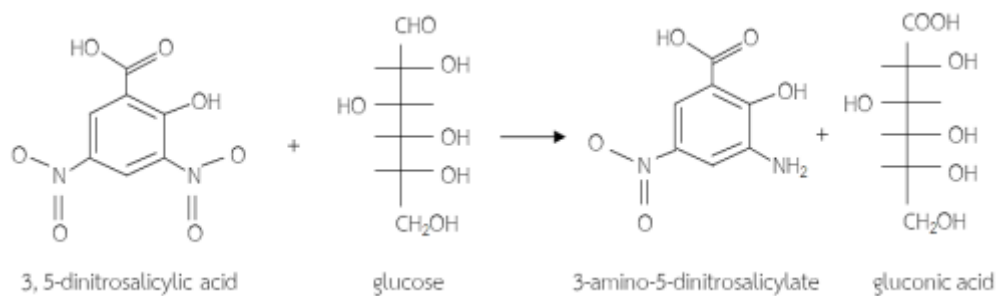
2.6.1 การทดสอบน้ำตาลรีดิวิซโดยวิธีเฟห์ลิง (Fehling test) (บึงอร, 2547)

เป็นการทดสอบความสามารถรีดิวิซของน้ำตาลในหมู่ของ แอลดีไฮด์หรือคีโตน โดยใช้สาร ละลายเฟห์ลิงซึ่งประกอบด้วย คอปเปอร์ (II) ซัลเฟต (Copper(II)sulfate ; CuSO_4) โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide ; KOH) และ โพแทสเซียมทาร์เตรต (Potassium tartrate ; $\text{K}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$) และน้ำตาลที่สามารถรีดิวิซได้ ได้แก่ โมโนแซ็กคาไรด์ แล็กโทส มอลโทส จะเปลี่ยน CuSO_4 เป็นตะกอน คิวปริสออกไซด์ (Cu_2O) สีแดงอิฐ ดังสมการ



2.6.2 การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวิซโดยวิธี DNS (3,5-dinitrosalicylic acid) (พิมพ์เพ็ญ, 2555)

เป็นการทดสอบหาปริมาณน้ำตาลรีดิวิซในปริมาณต่ำอาศัยคุณสมบัติการรีดิวิซไอออน เช่น Cu^{2+} หรือ Ag^+ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้และไม่ละลายน้ำ ทำปฏิกิริยาน้ำตาลรีดิวิซกับสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) ซึ่งใน DNS มีหมู่ไนโตร 2 หมู่ มีลักษณะสีเหลือง เมื่อหมู่ไนโตร 1 หมู่ถูกรีดิวิซโดยหมู่แอลดีไฮด์ของน้ำตาล โดยมีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำให้ DNS เปลี่ยนสภาพเป็น 3-amino,5-nitro-salicylic acid ซึ่งมีสีส้มแดง และสามารถนำไปหาค่าดูดกลืนแสงได้ในช่วง 520 ถึง 540 นาโนเมตรได้



ภาพที่ 2.6 ปฏิกิริยาของ 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) ถูกรีดิวซ์โดยหมู่แอลดีไฮด์ของน้ำตาลเป็น 3-amino,5-nitrosalicylic acid

ที่มา : <http://www.lsbu.ac.uk/biology/enzyme/practical1.html>

2.7 ความเป็นกรด - ด่าง

ความเป็นกรด - เบส หรือค่า pH เป็นส่วนกลับของลอการิทึม (logarithm) ของไฮโดรเจนไอออน (H^+) มีหน่วยเป็นกรัมต่อสารละลายหนึ่งลิตร แสดงค่าความเป็นกรด - เบสของสารละลาย มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 14

pH = 7 คือ ความเป็นกลาง (natural pH)

pH < 7 คือ ความเป็นกรด (acidic pH)

pH > 7 คือ ความเป็นเบส (alkaline pH)

โดยในการหมักจะมีการวัดค่า pH ก่อน เพื่อดูความเหมาะสมของความเป็นกรดต่างในการหมักไวน์ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของยีสต์ ซึ่งค่า pH ที่เหมาะสมต่อการหมักไวน์อยู่ระหว่าง 3 ถึง 4 การวัดค่า pH สามารถทำได้โดยใช้ กระดาษลิตมัส (litmus paper) หรือ มาตรวัด pH (pH meter)

2.8 Ebulliometer

Ebulliometer เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดแอลกอฮอล์ในไวน์ โดยอาศัยหลักการที่เมื่อสารละลายมีแอลกอฮอล์ จะทำให้จุดเดือดของน้ำลดลง เมื่อได้จุดเดือดของไวน์แล้วจึงนำอุณหภูมิที่ได้ไปเปรียบเทียบกับแผ่นสเกลที่ปรับ สเกลให้เลข 0 ตรงกับจุดเดือดของน้ำ จากนั้นอ่านค่าอุณหภูมิของไวน์ที่ได้เทียบกับแผ่นสเกลว่าตรงกับกี่เปอร์เซ็นต์ โดยระหว่างการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์จำเป็นจะต้องมีการวัดปริมาณแอลกอฮอล์อยู่ตลอด เพื่อที่จะสามารถควบคุมคุณภาพ เพื่อนำไปกลั่นหรือบ่มได้หลังจากเสร็จกระบวนการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.7 ลักษณะของเครื่องอีบูลิเมเตอร์(Ebulliometer)

ที่มา : <https://www.chatcharee.com>



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัสดุดิบ

3.1.1.1 น้ำผึ้งจากจังหวัดอุดรธานี

3.1.1.2 น้ำผึ้งจากจังหวัดชุมพร

3.1.1.3 น้ำผึ้งตราดอยคำ

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.1.2.1 ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049

3.1.2.2 Yeast Malt Broth (YM Broth)

3.1.2.3 น้ำกลั่น

3.1.2.4 Folin-Ciocalteu reagent 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS)

3.1.2.5 กรดแกลลิก (Gallic acid)

3.1.2.6 เอทานอล (Ethanol)

3.1.2.7 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

3.1.2.8 กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid)

3.1.2.9 ฟีนอลฟทาลีน (Phenolphthalein)

3.1.2.10 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide)

3.1.2.11 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS)

3.1.2.12 กลูโคส (Glucose)

3.1.3 วัสดุอุปกรณ์

3.1.3.1 ขวดรูปชมพู่ (Flask)

3.1.3.2 เครื่องเขย่าสารละลาย (Shaker)

3.1.3.3 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)

3.1.3.4 ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)

3.1.3.5 ปิเปต (Pipette)

3.1.3.6 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)

3.1.3.7 สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)

3.1.3.8 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

3.1.3.9 ตู้ปลอดเชื้อ (Biological safety cabinet)

3.1.3.10 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Analytical balance)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3.11 เครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์ (Ebulliometer)

3.1.3.12 เครื่องวัดค่าความหวาน (Refractometer)

3.2 วิธีทดลอง

3.2.1 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยวิธี Folin-ciocalteu phenol reagent (Yingngam และคณะ, 2014)

3.2.1.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

นำสารละลายฟอลินเจ็องกับน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเป็นร้อยละ 10 โดยปริมาตร (10% v/v Folin-Ciocalteu reagent) จากนั้นละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (7.5% w/v) โดยชั่ง Na_2CO_3 7.5 g ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 ml แล้วจึงเตรียมสารละลายกรดแกลลิกเข้มข้น 1000 mg/L จากนั้นจึงทำการเจ็องด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ให้มีความเข้มข้น 0 10 50 100 150 mg/L

3.2.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก

วิเคราะห์ปริมาณของสารฟีนอลิกในตัวอย่างน้ำผึ้งโดยการปิเปตตัวอย่างน้ำผึ้งมา 0.2 ml เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2.5 ml เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นจึงทำการเติม 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ปริมาตร 2 ml และเติมสารละลายฟอลินปริมาตร 0.2 ml เขย่าให้เข้ากัน นำไปตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 90 นาที จึงนำไปหาค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักสาร 1 g (mg GAE/g)

3.2.2 การวิเคราะห์การยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (Yingngam และ คณะ, 2014)

3.2.2.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก

ชั่ง DPPH 1 mg ละลายในเอทานอลบริสุทธิ์ปริมาตร 100 ml จากนั้นจึงนำมาเจ็อง เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 0 0.2 0.4 0.6 0.8 1 2 4 6 mg/L

3.2.2.2 วิเคราะห์การยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์การยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างน้ำผึ้งโดย ปิเปตตัวอย่างน้ำผึ้งมา 4 g นำไปละลายใน 40% เอทานอล ปรับปริมาตรให้ได้ 50 ml จากนั้นทำการเจ็องให้มีความเข้มข้น 0.02 0.04 0.06 0.08 โดยมีเอทานอลเป็นตัวทำละลาย จึงทำการปิเปตตัวอย่างที่ทำการเจ็องแล้วมาปริมาตร 0.3 ml เติม DPPH ลงไป 1.5 ml เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปตั้งในที่มืดเป็นเวลา 40 นาที จากนั้นจึงนำไปหาค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

การคำนวณ DPPH radical scavenging (%)

$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = \left(\frac{A_0 - A_s}{A_0} \right) \times 100$$

A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ

A_s คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ

3.2.3 การหมักไวน์น้ำผึ้ง

3.2.3.1 การเตรียมยีสต์

ซังอาหาร YM 37.8 g จากนั้นนำไปละลายน้ำ ปริมาตร 900 ml เทอาหาร YM ใส่ขวดรูปลูกขมพู่ 9 ขวด ขวดละ 100 ml ปิดปากขวดด้วยสำลีห่อฟรอยและนำไปนิ่งฆ่าเชื้อ เมื่อนิ่งฆ่าเชื้อเสร็จรอให้อาหารเย็นตัวเพื่อทำการทดลองในขั้นต่อไป

3.2.3.2 การเตรียมเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049

ใช้ลูกขี้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 แล้วทำการจุ่มลูกขี้เชื้อลงในอาหารและแกว่งเพื่อให้เชื้อลงไปในการ ทำสองซ้ำ แล้วจึงนำไปบ่มที่ตู้บ่มแบบเขย่าควบคุมอุณหภูมิ โดยตั้งค่าตัวเครื่องที่อุณหภูมิ 35 องศา ความเร็ว 150 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2.3.3 การเตรียมน้ำผึ้ง

นำน้ำผึ้งจากทั้งสามแหล่ง คือ น้ำผึ้งจากจังหวัดอุดรธานี น้ำผึ้งจากจังหวัดชุมพรและน้ำผึ้งตราดอยคำมา 1,480 g ทำการละลายในน้ำปริมาตร 4 L

3.2.3.4 การหมักไวน์น้ำผึ้ง

ทำการกลั่นภาชนะและอุปกรณ์ที่จะใช้ด้วยน้ำร้อนเดือดจัด จากนั้นต้มน้ำดื่มสะอาดให้เดือด พักให้เย็นสักครู่จึงทำการเทน้ำใส่ถังหมักปริมาตร 5 L และละลายน้ำผึ้ง 1,480 g ด้วยน้ำที่ต้มสุกแล้วด้วยน้ำปริมาตร 500 ml นำน้ำผึ้งที่ละลายแล้วกรองด้วยผ้าขาวบางก่อนจะเทใส่ถังหมัก เทเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 ที่เตรียมไว้ใส่ถังหมัก ถังละ 3 ขวด รูปขมพู่ เทน้ำที่เหลือให้ครบปริมาตร 4 L แล้วจึงปิดฝาถังด้วยแอร์ล็อก ใช้เวลาหมัก 22 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทุก 2 วันเพื่อนำไปศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณแอลกอฮอล์ ค่าความหวาน และค่า pH

3.2.4 การหาปริมาณกรดทั้งหมดด้วยการไทเทรต

การหาปริมาณกรดทั้งหมดโดยการไทเทรต ทำโดยปิเปตตัวอย่างน้ำผึ้งที่ละลายน้ำ ซึ่งยังไม่ผสมเชื้อยีสต์ลงไปมาปริมาตร 5 ml ใส่ในขวดรูปขมพู่ จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 95 ml หยด ฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein) 3 หยด จึงนำไปไทเทรตกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) จนได้สีชมพูอ่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5 การวัดการเจริญเติบโตของยีสต์

วัดการเจริญเติบโตของยีสต์ ทำโดยปิเปตตัวอย่างไวน์น้ำผึ้งปริมาตร 5 ml เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 ml เขย่าสารให้เข้ากันจึงนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

3.2.6 การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNS (3,5-dinitrosalicylic acid) (ทองสุข พละมา, 2546)

การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS โดยปิเปตตัวอย่างไวน์น้ำผึ้งปริมาตร 5 ml เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 ml จากนั้นทำการเติม DNS (3,5-dinitrosalicylic acid) ปริมาตร 0.25 ml เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปต้มในน้ำเดือดจัดเป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลาจึงนำไปหยุดปฏิกิริยาโดยการนำไปแช่ในอ่างน้ำเย็น จึงนำไปหาค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (ทองสุข พละมา, 2546)

3.2.7 การวัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH)

เทตัวอย่างไวน์น้ำผึ้งที่จะศึกษาค่า pH ใส่บีกเกอร์ปริมาตร 10 ml นำหัวอิเล็กโทรดมาทำความสะอาดโดยใช้น้ำกลั่นฉีดล้างให้ทั่วแล้วซับด้วยทิชชูสะอาด จากนั้นจึงจุ่มหัวอิเล็กโทรดที่ทำความสะอาดแล้วลงในตัวอย่างไวน์ที่ศึกษา โดยจุ่มหัวอิเล็กโทรดลงไปให้ส่วนหัวจุ่มอยู่ในตัวอย่าง รอให้ค่าคงที่จึงทำการอ่านค่าและจดบันทึกผล (ทองสุข พละมา, 2546)

3.2.8 การหาปริมาณแอลกอฮอล์

การหาปริมาณแอลกอฮอล์จะใช้เครื่อง Ebulliometer ซึ่งใช้หาเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ ซึ่งก่อนจะหาเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์นั้นจะต้องหาจุดเดือดของน้ำก่อน ในการหาจุดเดือดของน้ำทำได้โดยเทน้ำกลั่นปริมาตร 20 ml ลงในช่องใส่ตัวอย่าง จากนั้นทำการปิดช่องด้วยเทอร์โมมิเตอร์ จุดตะเกียงแล้วรออุณหภูมิขึ้น เมื่ออุณหภูมิขึ้นจนคงที่แล้วจึงอ่านอุณหภูมิที่ได้ แล้วปรับอุณหภูมิที่เป็นจุดเดือดของน้ำให้ตรงกับเลขศูนย์บนแผ่นสเกลอ่านค่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ จากนั้นเปิดก๊อกของตัวเครื่องเพื่อเทของเหลวที่อยู่ในตัวเครื่อง กลั้วล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนจะเทตัวอย่างไวน์ใส่ลงไป จากนั้นจึงทำการใส่ไวน์ปริมาตร 50 ml ลงในช่องใส่ตัวอย่าง และปิดช่องใส่ตัวอย่างด้วยเทอร์โมมิเตอร์ และจุดตะเกียง รออุณหภูมิขึ้นจนคงที่แล้วจึงอ่านค่า เทียบค่าที่ได้กับสเกลโดยอ่านค่าจากอุณหภูมิที่ได้ (วงใน) เทียบกับเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ (วงนอก)

3.2.9 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

การทดสอบประเมินทางประสาทสัมผัสของไวน์น้ำผึ้ง โดยให้อาสาสมัครที่สามารถรับประทานเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ได้จำนวน 50 คน ทดสอบชิมและให้คะแนนความชอบในด้านความคิดสร้างสรรค์ รสชาติ กลิ่น สี และความพึงพอใจโดยรวม โดยระดับคะแนนคือ (5) มากที่สุด (4) มาก (3) ปานกลาง (2) น้อย (1) น้อยที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการทดลองที่ได้นำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ โดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้วยวิธี one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

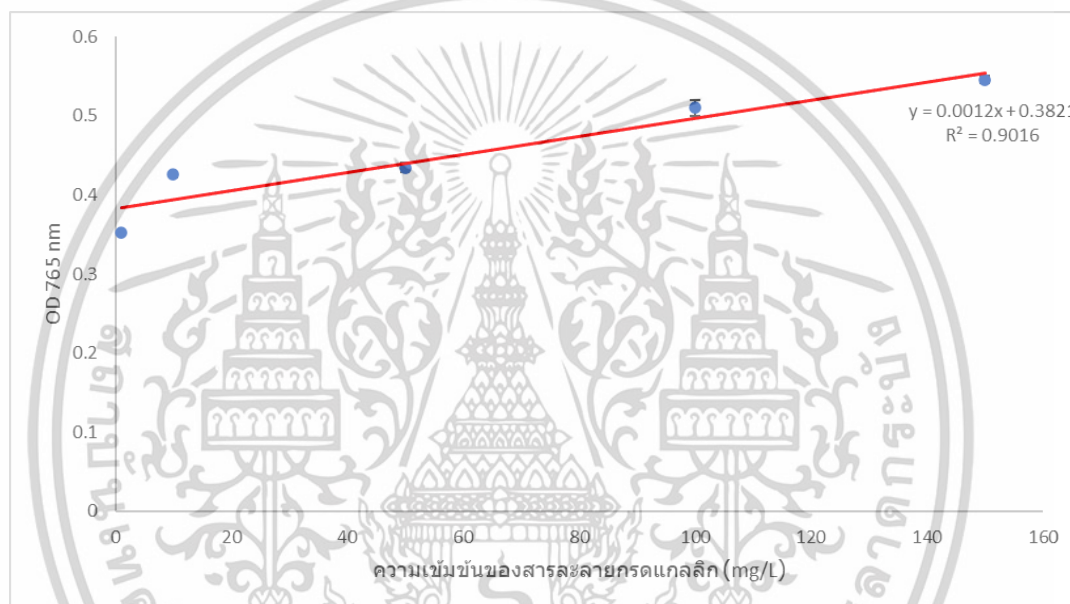
บทที่ 4

ผลและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 การศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

4.1.1 การสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

ทำการหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน ได้กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกแสดงดังภาพที่ 4.1 โดยมีสมการเส้นตรงคือ $y = 0.0012x + 0.3821$



ภาพที่ 4.1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

4.1.2 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก สามารถนำไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมของน้ำผึ้งทั้งสามแหล่งได้ค่าแสดงดัง ตารางที่ 4.1 และ ตารางที่ 4.2 พบว่าสารประกอบฟีนอลิกรวมในน้ำผึ้งจากจังหวัดชุมพร จังหวัดอุดรธานีและน้ำผึ้งดอยคำก่อนกระบวนการหมัก มีสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ที่ 6.67 mg GAE/g 6.58 mg GAE/g และ 6.94 mg GAE/g ตามลำดับ แต่เมื่อหลังสิ้นสุดกระบวนการหมักจะมีสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ที่ 1.25 mg GAE/g 1.73 mg GAE/g และ 0.89 mg GAE/g ตามลำดับ ซึ่งค่าสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ลดลงอาจเกิดจากกระบวนการก่อนการหมักที่จะต้องมีการนำน้ำผึ้งมาผสมน้ำอุ่น สอดคล้องกับบทความงานวิจัยของ (ณลิตา, 2564) ที่กล่าวว่า ความร้อนส่งผลให้เกิดการสูญเสียสารประกอบฟีนอลิกจำนวนหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 สารประกอบฟีนอลิกรวมในน้ำผึ้งก่อนกระบวนการหมัก

สารประกอบฟีนอลิกรวมในน้ำผึ้งก่อนกระบวนการหมัก mg GAE/g	
น้ำผึ้งจากจังหวัดชุมพร	6.67
น้ำผึ้งจากจังหวัดอุดรธานี	6.58
น้ำผึ้งตราดอยคำ	6.94

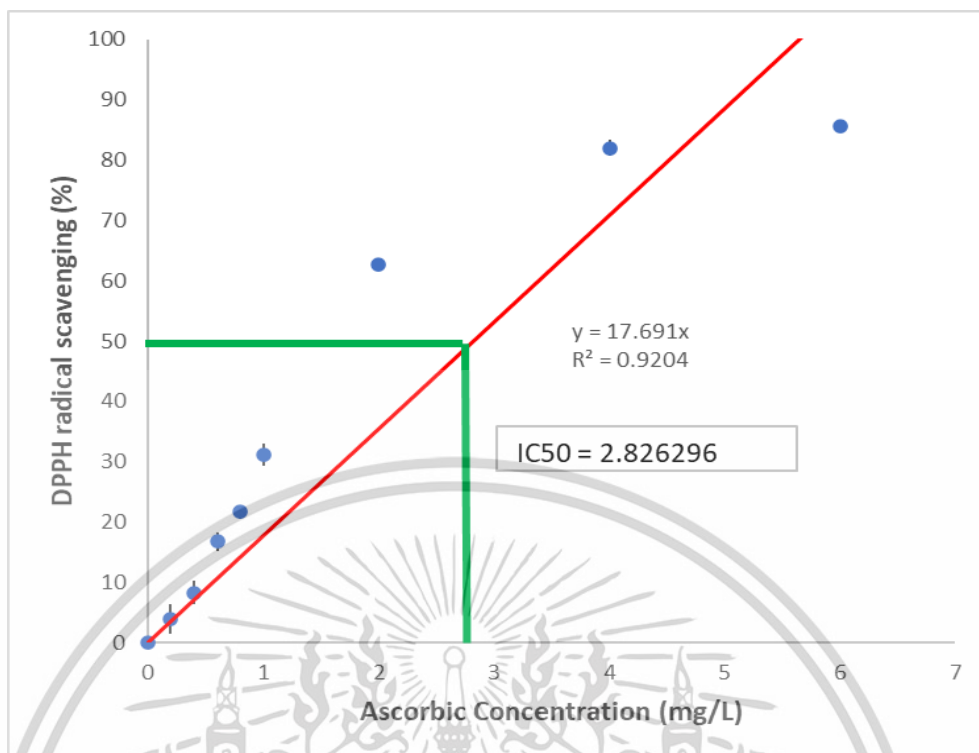
ตารางที่ 4.2 สารประกอบฟีนอลิกรวมในน้ำผึ้งหลังกระบวนการหมัก

สารประกอบฟีนอลิกรวมในน้ำผึ้งหลังกระบวนการหมัก mg GAE/g	
น้ำผึ้งจากจังหวัดชุมพร	1.25
น้ำผึ้งจากจังหวัดอุดรธานี	1.73
น้ำผึ้งตราดอยคำ	0.89

4.2 การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ในน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

4.2.1 ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระจากกรดแอสคอร์บิก

ทำการหาประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยใช้กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐานพบว่าได้กราฟเปอร์เซ็นต์ยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของกรดแอสคอร์บิกแสดงดังภาพที่ 4.2 กราฟเปอร์เซ็นต์ยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของกรดแอสคอร์บิก



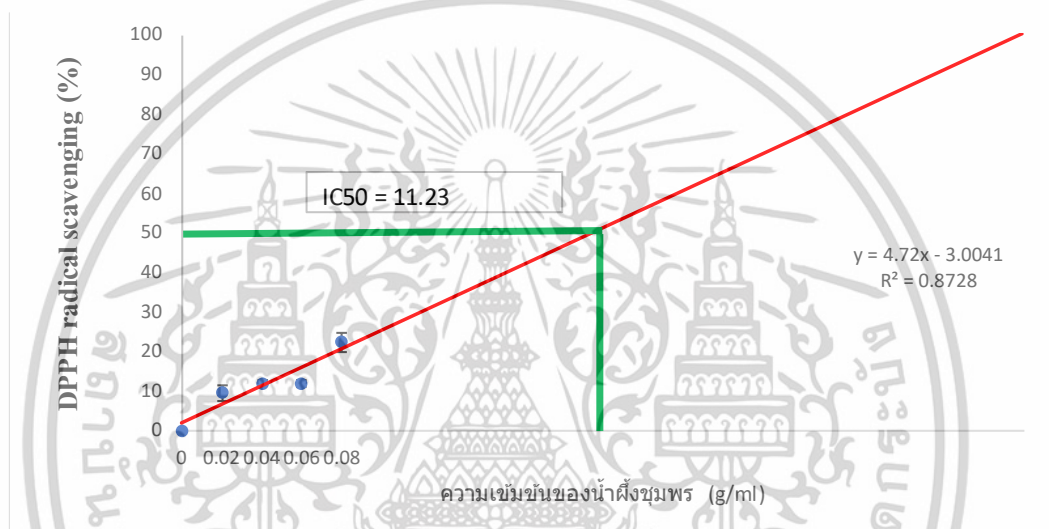
ภาพที่ 4.2 กราฟเปอร์เซ็นต์ยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชของกรดแอสคอร์บิก

4.2.1 ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำผึ้งจากจังหวัดชุมพร

จากการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งจากจังหวัดชุมพร ก่อนกระบวนการหมักจะเห็นได้จากภาพที่ 4.3 ความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ 0.02 0.04 0.06 และ 0.08 g/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 9.49% 12.02% 11.85% และ 22.42% ตามลำดับ และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 11.23 g/ml แต่เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักแสดงดังภาพที่ 4.4 ความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ 0.02 0.04 0.06 และ 0.08 g/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 14.42% 14.47% 16.58% และ 19.13% ตามลำดับ และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 11.74 g/ml พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่าลดลง

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งชมพูก่อนกระบวนการหมัก

น้ำผึ้งชมพูก่อนกระบวนการหมัก					
ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง (g/ml)	0	0.02	0.04	0.06	0.08
เปอร์เซ็นต์การออก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	0	9.49±1.87	12.02±0.74	11.85±0.88	22.42±2.43

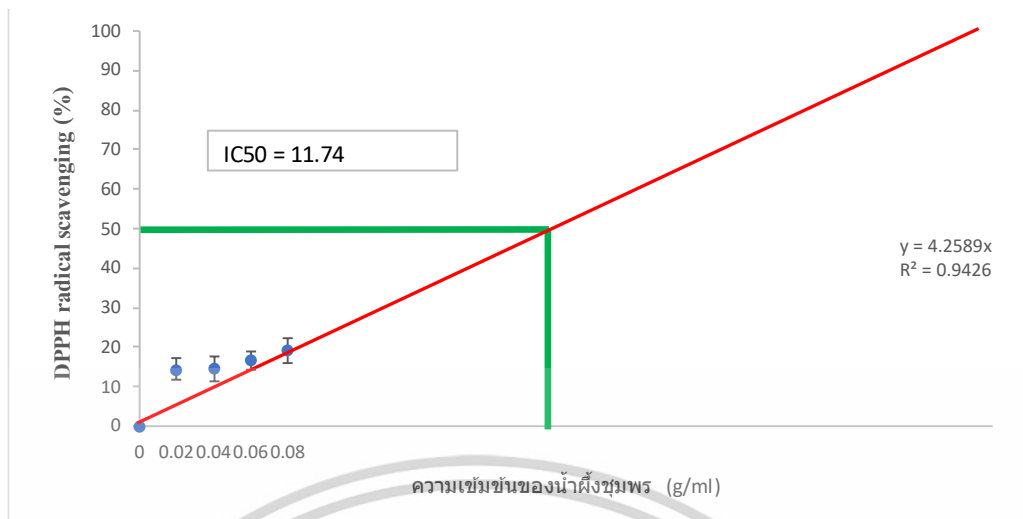


ภาพที่ 4.3 กราฟเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งชมพูก่อนกระบวนการหมัก

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งชมพูหลังกระบวนการหมัก

น้ำผึ้งชมพูหลังกระบวนการหมัก					
ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง (g/ml)	0	0.02	0.04	0.06	0.08
เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระ	0	14.42±2.65	14.47±3.18	16.58±2.34	19.13±3.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



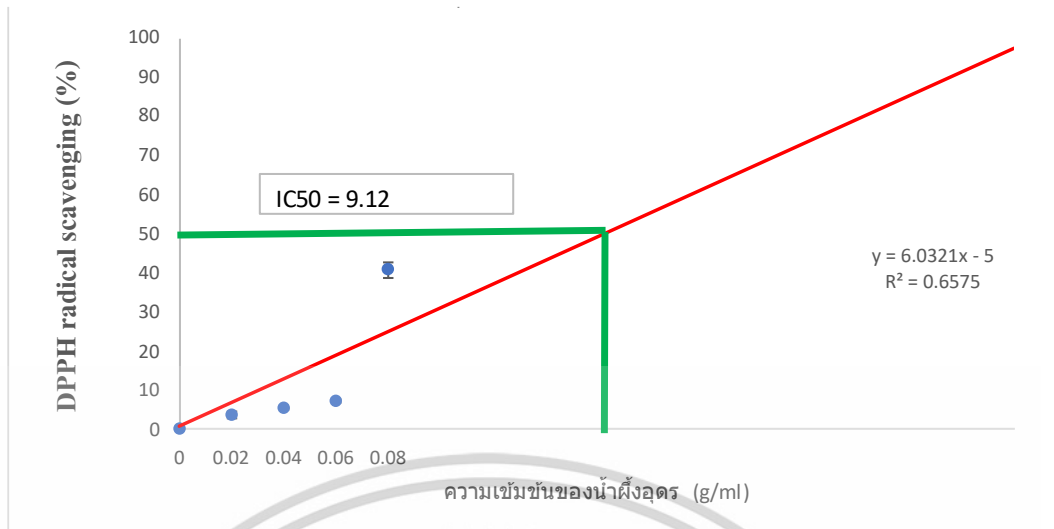
ภาพที่ 4.4 กราฟเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งชุมพรหลังกระบวนการหมัก

4.2.2 ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งอุดรธานี

จากภาพที่ 4.5 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งจากจังหวัดอุดรธานีก่อนกระบวนการหมัก ความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ 0.02 0.04 0.06 และ 0.08 g/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 3.66% 5.44% 7.34% และ 40.76% ตามลำดับ และมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 9.12 g/ml แต่เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักแสดงดังภาพที่ 4.6 ความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ 0.02 0.04 0.06 และ 0.08 g/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 12.64% 12.46% 15.32% และ 19.76% ตามลำดับ และมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 12.35 g/ml พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่าลดลง

ตารางที่ 4.5 เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งอุดรธานีก่อนกระบวนการหมัก

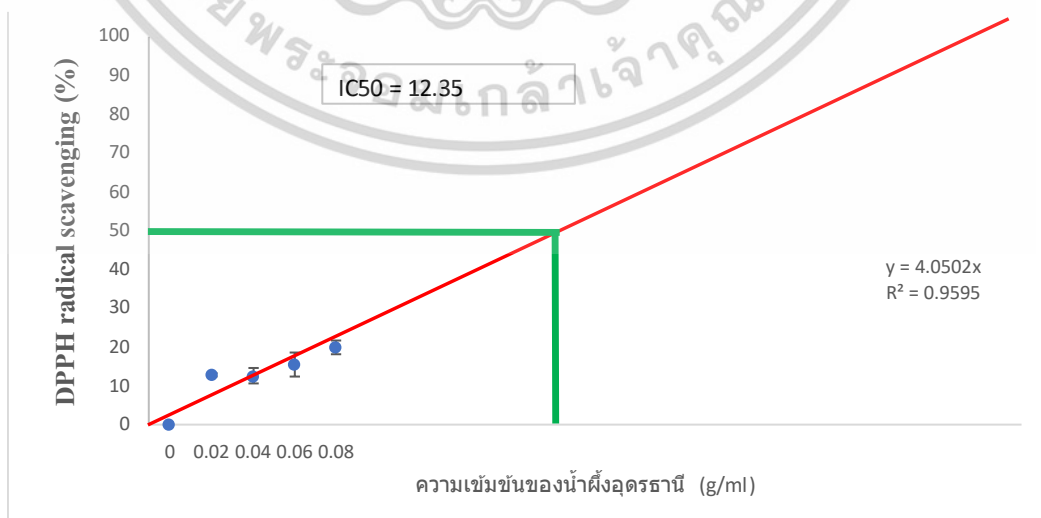
น้ำผึ้งอุดรธานีก่อนกระบวนการหมัก					
ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง (g/ml)	0	0.02	0.04	0.06	0.08
เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	0	3.66±0.92	5.44±0.22	7.34±0.55	40.76±2.05



ภาพที่ 4.5 กราฟเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำฝัองูตรธานีก่อนกระบวนการหมัก

ตารางที่ 4.6 เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำฝัองูตรธานีหลังกระบวนการหมัก

น้ำฝัองูตรธานีหลังกระบวนการหมัก					
ความเข้มข้นของน้ำฝัองูตร (g/ml)	0	0.02	0.04	0.06	0.08
เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	0	12.64±0.54	12.46±1.95	15.32±3.03	19.76±1.92



ภาพที่ 4.6 กราฟเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำฝัองูตรธานีหลังกระบวนการหมัก

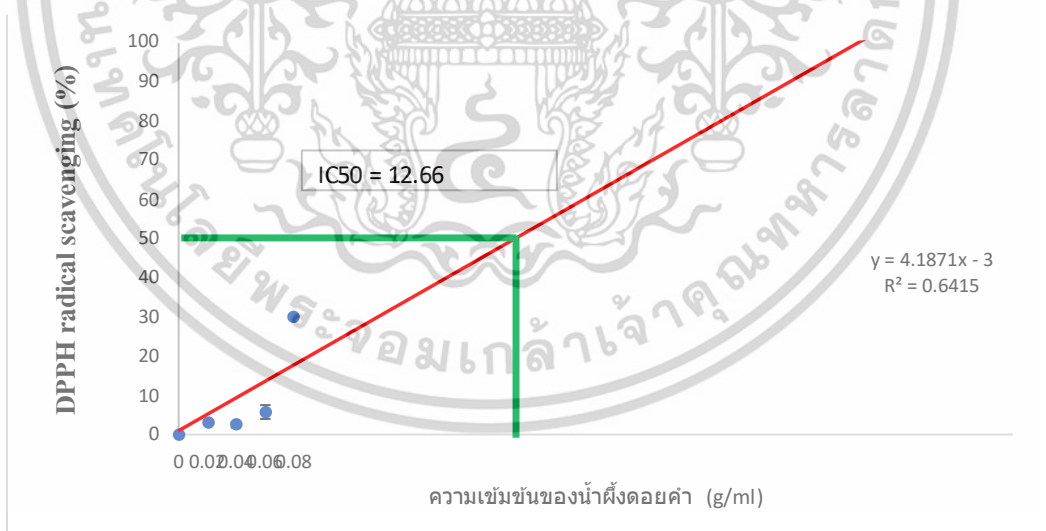
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งตราดอยคำ

จากภาพที่ 4.7 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งตราดอยคำก่อนกระบวนการหมัก ความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ 0.02 0.04 0.06 และ 0.08 g/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 0.02 0.04 0.06 และ 0.08 g/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 2.89% 2.33% 5.57% และ 30.05% ตามลำดับ และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 12.66 g/ml แต่เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก แสดงดังภาพที่ 4.8 ความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่ 0.02 0.04 0.06 และ 0.08 g/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 11.76% 13.89% 16.31% และ 17.14% ตามลำดับและมีค่า IC_{50} เท่ากับ 12.72 g/ml พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่าลดลง

ตารางที่ 4.7 เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งตราดอยคำก่อนกระบวนการหมัก

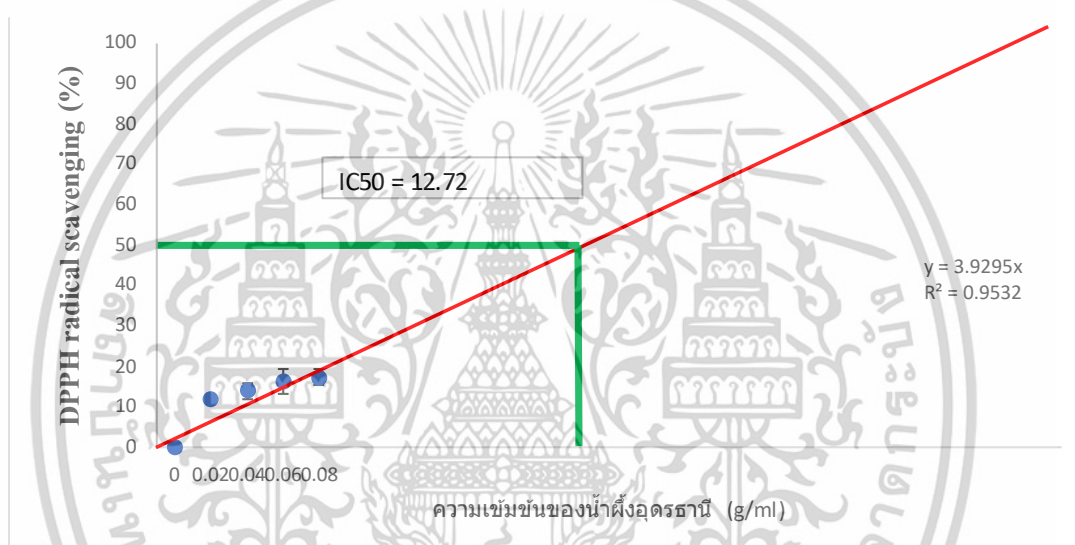
น้ำผึ้งตราดอยคำก่อนกระบวนการหมัก					
ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง (g/ml)	0	0.02	0.04	0.06	0.08
เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระ	0	2.89±0.31	2.33±0.62	5.57±1.76	30.05±0.52



ภาพที่ 4.7 กราฟเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งตราดอยคำก่อนกระบวนการหมัก

ตารางที่ 4.8 เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งตราดอยคำหลังกระบวนการหมัก

น้ำผึ้งตราดอยคำหลังกระบวนการหมัก					
ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง (g/ml)	0	0.02	0.04	0.06	0.08
เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระ	0	11.76±0.70	13.89±1.23	16.31±0.37	17.14±0.29



ภาพที่ 4.8 กราฟเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งตราดอยคำหลังกระบวนการหมัก

ตารางที่ 4.9 ตารางเปรียบเทียบค่า IC₅₀ ของวิตามินซีกับน้ำผึ้งแต่ละชนิด

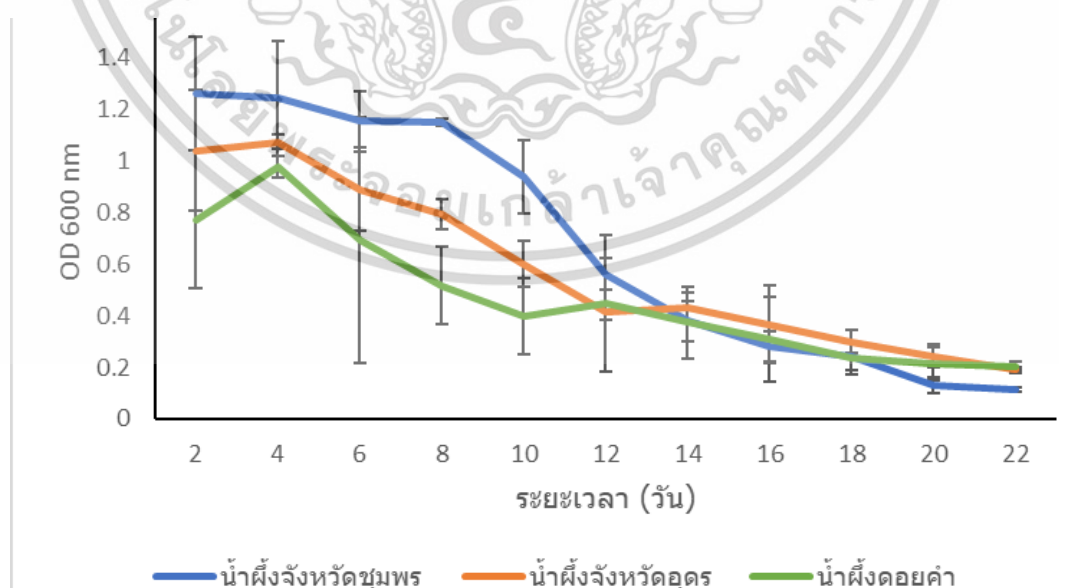
ค่า IC ₅₀ ของวิตามินซี	2.82
ค่า IC ₅₀ ของน้ำผึ้งชุมพรก่อนกระบวนการหมัก	11.23
ค่า IC ₅₀ ของน้ำผึ้งอุดรธานีก่อนกระบวนการหมัก	9.12
ค่า IC ₅₀ ของน้ำผึ้งตราดอยคำก่อนกระบวนการหมัก	12.66
ค่า IC ₅₀ ของน้ำผึ้งชุมพรหลังกระบวนการหมัก	11.74
ค่า IC ₅₀ ของน้ำผึ้งอุดรธานีหลังกระบวนการหมัก	12.35
ค่า IC ₅₀ ของน้ำผึ้งตราดอยคำหลังกระบวนการหมัก	12.72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งจากผลการทดลองของการยับยั้งอนุโมลิสระในน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง จะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุโมลิสระหลังกระบวนการหมักลดลง ซึ่งเป็นผลจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ลดลง

4.3 การศึกษาการเจริญเติบโตของ ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 ในไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

จากการทดลองการศึกษาการเจริญเติบโตของ ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างในวันที่ 2 ของการหมักจะเห็นได้จากภาพที่ 4.9 การเจริญเติบโตของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 ในไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง หลังผ่านกระบวนการหมักไปได้เพียง 2 วัน (Day 2) จะเห็นได้ว่ายีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในไวน์น้ำผึ้งจังหวัดชุมพรมีการเจริญเติบโตมากกว่าน้ำผึ้งจากจังหวัดอุดรธานีและน้ำผึ้งดอยคำตามลำดับ หลังผ่านไปกระบวนการหมักผ่านไปได้ 6 วัน (Day 6) จะเห็นได้ว่าการเจริญเติบโตของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ค่อยๆลดลงและลดลงอย่างเห็นได้ชัดในวันที่ 8 ถึง 12 (Day 8 – Day 12) หลังจากผ่านไป 12 วันจะเห็นได้ว่าการเจริญเติบโตของยีสต์ในน้ำผึ้งชุมพรยังคงมีค่าความเจริญมากกว่าในน้ำผึ้งดอยคำ และอุดรธานี ตามลำดับ จนกระทั่งผ่านไป 14 วันของการหมัก การเจริญเติบโตของยีสต์ในน้ำผึ้งชุมพรจะมีค่าน้อยลงหรือเท่ากับของน้ำผึ้งดอยคำ แต่ของในน้ำผึ้งอุดรธานีกลับมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และลดลงหลังจากนั้นจนถึงสิ้นสุดกระบวนการหมัก

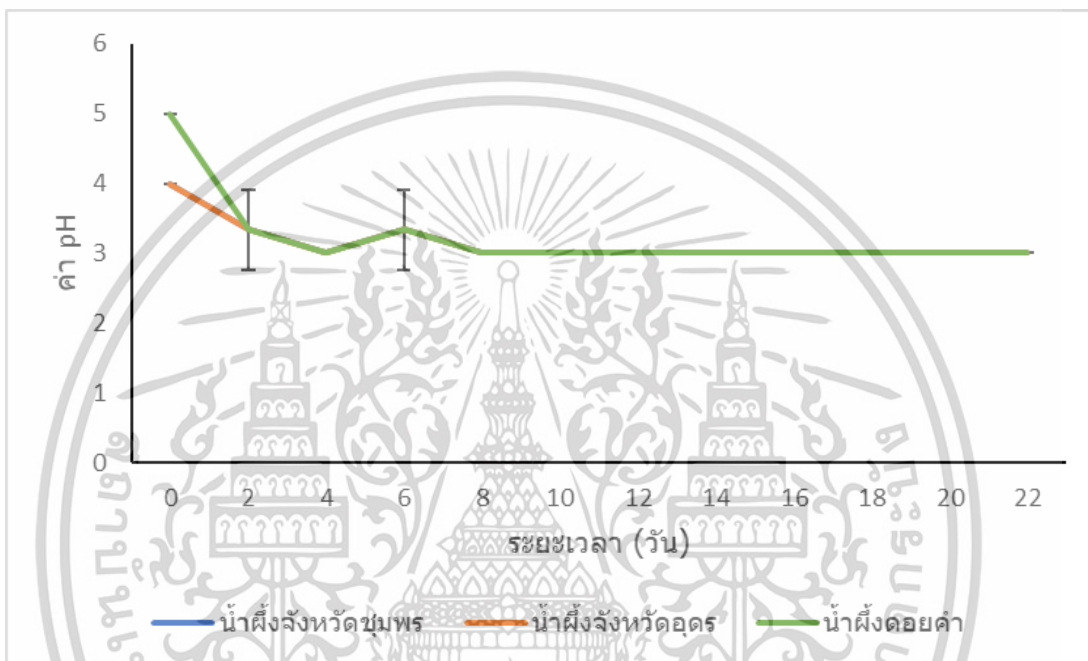


ภาพที่ 4.9 การเจริญเติบโตของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 ในไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การศึกษาค่า pH ในไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

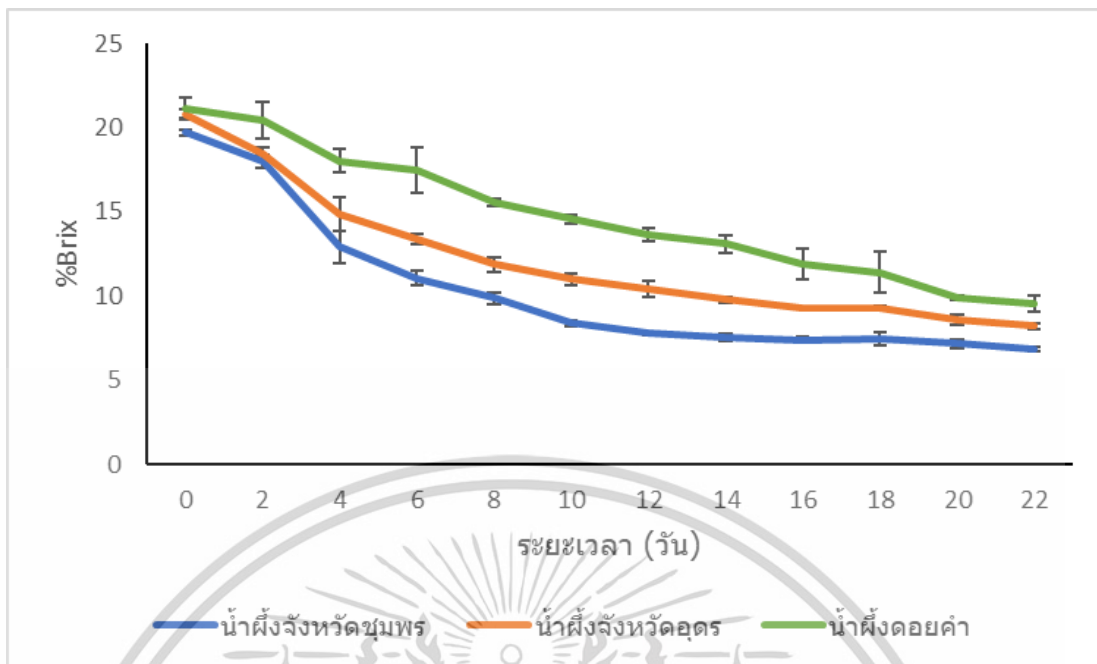
จากการทดลองศึกษาค่า pH จากการหมักไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง แสดงดังภาพที่ 4.10 ก่อนเริ่มหมัก (Day 0) ค่า pH ของน้ำผึ้งดอยคำจะอยู่ที่ 5 ส่วนค่า pH ของน้ำผึ้งชุมพรและอุดรธานีจะอยู่ที่ 4 เมื่อผ่านการหมักไป 2 วัน ค่า pH ของน้ำผึ้งทั้งสามชนิดมีค่าลดลง และมีค่าคงที่อยู่ที่ pH อยู่ที่ประมาณ 3 จนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมัก (Day 22)



ภาพที่ 4.10 กราฟแสดงค่า pH ของไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

4.5 การศึกษาหาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (%Brix) ในไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

จากการศึกษาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในไวน์จากน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง จากภาพที่ 4.11 พบว่าค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดก่อนเริ่มหมัก (Day 0) ของน้ำผึ้งดอยคำจะมีค่าสูงกว่าน้ำผึ้งจากจังหวัดอุดรธานีและชุมพร ตามลำดับ โดยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะลดลงเรื่อยๆตามระยะเวลาในการหมักจนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมัก (Day 22) โดยที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของไวน์ที่หมักจากน้ำผึ้งดอยคำยังคงมีค่าสูงที่สุด



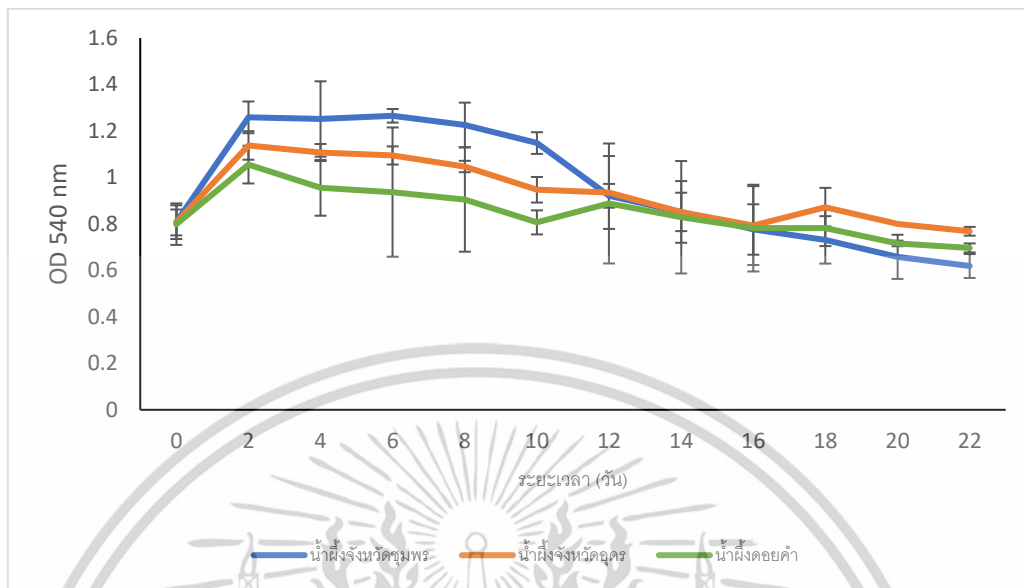
ภาพที่ 4.11 กราฟแสดงค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (%Brix) ของน้ำผึ้งทั้ง 3 แหล่ง

4.6 การศึกษาหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

จากการทดลองศึกษาหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง จากภาพที่ 4.12 พบว่าก่อนเริ่มหมัก (Day 0) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่งมีค่าใกล้เคียงกัน หลังผ่านกระบวนการหมักไปแล้ว 2 วัน (Day 2) ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์จะค่อยๆเพิ่ม โดยไวน์น้ำผึ้งจากจังหวัดชุมพรจะมีค่าน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด รองลงมาจะเป็นไวน์น้ำผึ้งจากจังหวัดอุดรธานีและน้ำผึ้งดอยคำตามลำดับ เนื่องจากในน้ำผึ้งประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุกโตส น้ำตาลมอลโทส และน้ำตาลซูโครส (อภิญา, 2559) และเมื่อกระบวนการหมักดำเนินไปยีสต์จะสามารถเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสที่ไม่ใช่น้ำตาลรีดิวซ์ (พิมพ์เพ็ญ, 2563) ให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวซึ่งเป็นน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นได้ สอดคล้องกับบทความงานวิจัยของ Horiuchi และคณะ 2000 ที่มีการรายงานว่าในช่วงการหมักไวน์จากหอมใหญ่ด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* IR-2 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุกโตสจะเพิ่มขึ้นในช่วง 0-24 ชั่วโมง ก่อนจะลดลงตามระยะเวลาในการหมัก เนื่องจากยีสต์ผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทส ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ ซึ่งสอดคล้องกับบทความงานวิจัยของ (ชนิดพล, 2553) ที่มีการรายงานว่ายีสต์จะมีการเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำผึ้งชุมพรเริ่มลดลงอย่างเห็นได้ชัดหลังวันที่ 10 (Day 10) ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำผึ้งอุดรธานีและดอยคำมีปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย หลังผ่านกระบวนการหมักไปได้ 16 วัน (Day 16) ระหว่างวันที่ 12 ถึง 16 ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงเรื่อย ๆ โดยปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำผึ้งทั้งสามชนิดมีค่าที่ใกล้เคียงจนเกือบจะเท่ากัน จนกระทั่งวันที่ 18 ของการหมัก (Day 18) จะเห็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

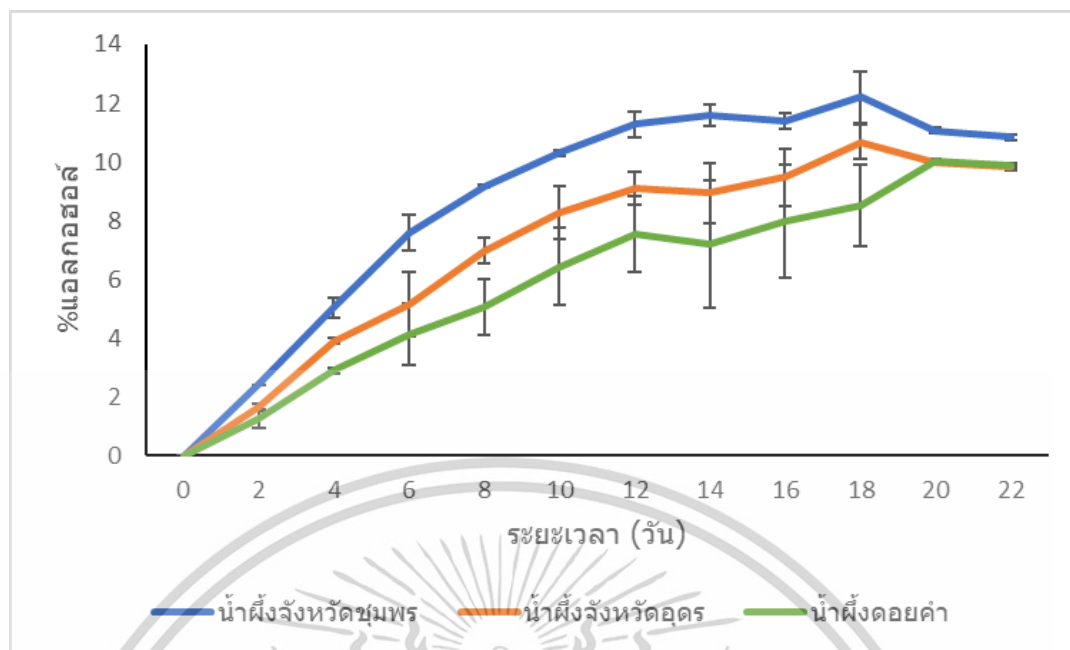
ได้ว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำผึ้งจังหวัดชุมพรจะมีปริมาณน้อยที่สุด ในขณะที่น้ำผึ้งจังหวัดอุดรธานีมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด รองลงมาเป็นไวน้ำผึ้งดอยคำตามลำดับ



ภาพที่ 4.12 กราฟแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในไวน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

4.7 การศึกษาปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

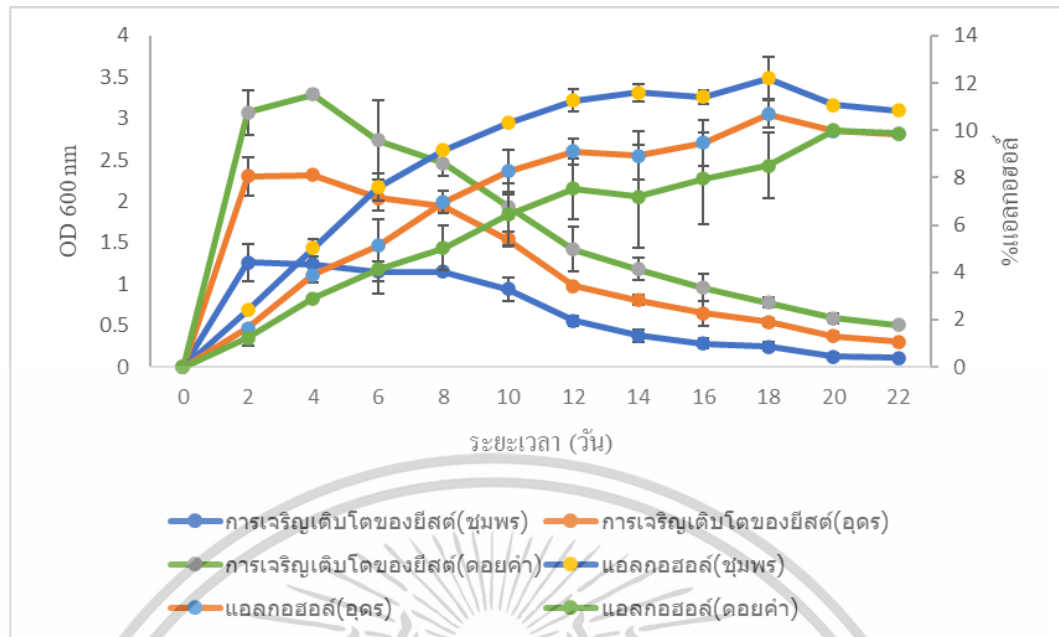
จากการทดลองศึกษาปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง ภาพที่ 4.13 กราฟแสดงปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง จะเห็นได้ว่าหลังผ่านกระบวนการหมักไปได้เพียง 2 วัน (Day 2) ปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน้ำผึ้งทั้งสามแหล่งนั้นเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งผ่านการหมักไปได้ 12 วัน (Day 12) ปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน้ำผึ้งชุมพรเพิ่มปริมาณอย่างช้าๆ ในขณะที่ปริมาณแอลกอฮอล์ของไวน้ำผึ้งอุดรธานีและดอยคำลดลงนิดหน่อย แต่หลังจากผ่านไป 14 วัน (Day 14) ของการหมัก ปริมาณแอลกอฮอล์ของไวน้ำผึ้งอุดรธานีและดอยคำกลับค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนกระทั่งผ่านกระบวนการหมักได้ 18 วัน (Day 18) ปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน้ำผึ้งอุดรธานีก็กลับค่อยๆ ลดลง แต่ของดอยคำยังคงเพิ่มขึ้นจนถึงสิ้นสุดกระบวนการหมัก (Day 22) ในขณะที่ปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน้ำผึ้งชุมพรเพิ่มสูงสุดในวันที่ 18 (Day 18) หลังจากนั้นจะค่อยๆ ลดลง เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักแล้ว ปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน้ำผึ้งชุมพรมีมากที่สุด รองลงมาเป็นไวน้ำผึ้งอุดรธานีและไวน้ำผึ้งดอยคำตามลำดับ



ภาพที่ 4.13 กราฟแสดงปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์น้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง

4.8 ศึกษาการเจริญเติบโตของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 เปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ที่ผลิตได้

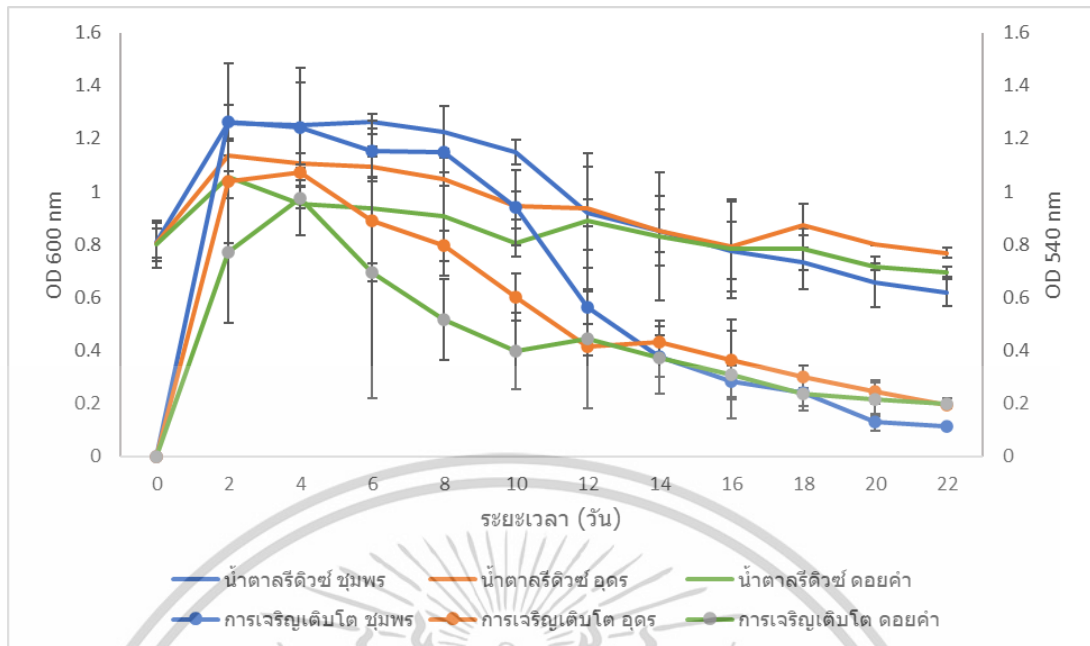
จากการศึกษาการเจริญเติบโตของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 เมื่อเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ จะเห็นได้จากภาพที่ 4.14 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 ที่สูง จะส่งผลให้เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งสอดคล้องกับบทความงานวิจัยของ (ชนิตพล, 2553) รายงานว่ายีสต์ใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตและเปลี่ยนให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ สังเกตได้จากช่วง Day0 – Day6 เส้นกราฟเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ของไวน์น้ำผึ้งชุมพร อุดรธานี และดอยคำ มีความชันสูงกว่าช่วง Day8 – Day22 ที่ยีสต์มีการเจริญเติบโตที่ลดลง



ภาพที่ 4.14 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 เปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

4.9 ศึกษาการเจริญเติบโตของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 เปรียบเทียบกับน้ำตาลรีดิวซ์

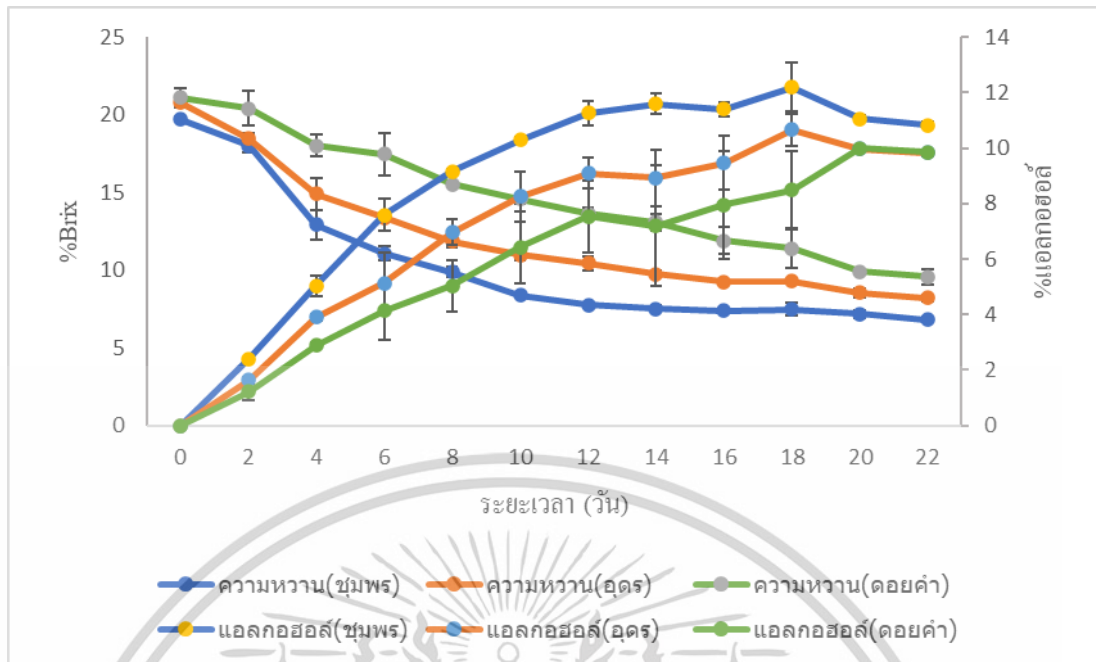
จากการศึกษาการเจริญเติบโตของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 เปรียบเทียบกับน้ำตาลรีดิวซ์ จากภาพที่ 4.15 จะเห็นได้ว่าความสัมพันธ์ของการเจริญเติบโตของยีสต์และน้ำตาลรีดิวซ์ หลังผ่านกระบวนการหมักได้เพียง 1 วัน เส้นกราฟของทั้งสองพุ่งสูงขึ้นเนื่องจากยีสต์จะผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทส ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Horiuchi และคณะ, 2000) หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะค่อยๆ ลดลง ซึ่งลักษณะความสัมพันธ์ของเส้นกราฟแสดงให้เห็นว่ายีสต์ได้ใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโต และเปลี่ยนให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ (ชนิตพล, 2553)



ภาพที่ 4.15 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 เปรียบเทียบกับน้ำตาลรีดิวซ์

4.10 ศึกษาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

จากการศึกษาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์จะเห็นได้จาก ภาพที่ 4.16 พบว่าในช่วง Day 0 เส้นกราฟปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะมีค่ามากกว่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ แต่เมื่อผ่านกระบวนการหมักมาได้ 8 วัน (Day 8) ค่าของเส้นกราฟปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์จะใกล้เคียงหรือเท่ากัน และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก เส้นกราฟของเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์จะพุ่งสูง ในขณะที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดนั้นดิ่งลง เนื่องจากยีสต์นำน้ำตาลไปใช้เพื่อผลิตเป็นแอลกอฮอล์ จึงส่งผลทำให้ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลงสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ที่สูงขึ้น



ภาพที่ 4.16 กราฟแสดงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

4.11 การศึกษาปริมาณกรดทั้งหมด

จากการศึกษาปริมาณกรดทั้งหมดในไวน์น้ำผึ้งจากทั้งสามแหล่ง จะเห็นได้จากตารางที่ 4.10 ก่อนกระบวนการหมักมี %TA ที่ 0 ในน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง แต่หลังสิ้นสุดกระบวนการหมักจะเห็นได้ว่า %TA ในน้ำผึ้งทั้งสามแหล่งเพิ่มขึ้น โดยกรดในไวน์มีหลายชนิด เช่น กรดมาลิก กรดซิตริก กรดทาร์ทาริก ซึ่งเป็นกรดหลักที่พบในการผลิตไวน์ นอกจากนี้อาจพบกรดซัคซินิก กรดแลคติก และกรดไพรูวิก ได้อีกด้วย จึงส่งผลให้ค่าพีเอชของไวน์อยู่ในช่วง 2.8-3.8 (อภิญา, 2558) ซึ่งกรดเหล่านี้มีความสำคัญต่อรสชาติ และสีของไวน์

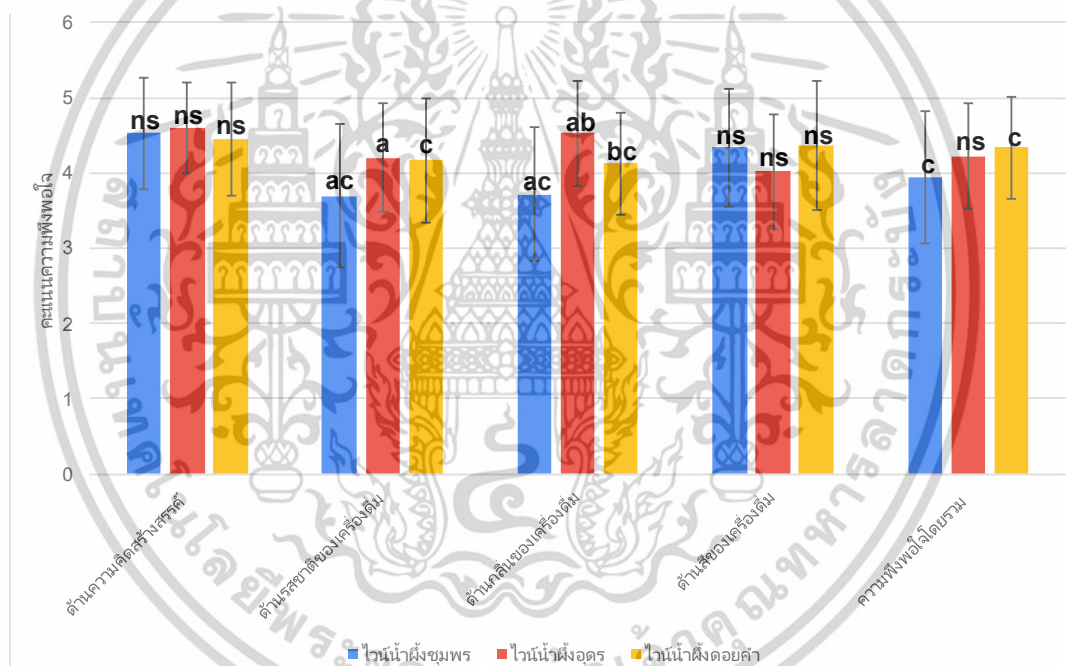
ตารางที่ 4.10 ปริมาณกรดทั้งหมด

	%TA ก่อนกระบวนการหมัก	%TA หลังกระบวนการหมัก
ชุมพร	0	0.045
อุดรธานี	0	0.105
ดอยคำ	0	0.045

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.12 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของไวน์น้ำผึ้งทั้งสามชนิด

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของไวน์น้ำผึ้งทั้งสามชนิด โดยทดสอบในอาสาสมัครที่สามารถรับประทานเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ได้จำนวน 50 คน ทดสอบชิมและให้คะแนน พบว่าด้านความคิดสร้างสรรค์น้ำผึ้งทั้งสามชนิดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ด้านของรสชาตินั้นไวน์น้ำผึ้งอุดรธานีและชุมพรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกับกับไวน์น้ำผึ้งชุมพรและดอยคำ แต่ไวน์น้ำผึ้งอุดรธานีและดอยคำนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในด้านของกลิ่นนั้นไวน์น้ำผึ้งอุดรธานีและชุมพรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับกับไวน์น้ำผึ้งชุมพรและดอยคำ แต่เมื่อเปรียบเทียบไวน์น้ำผึ้งอุดรธานีและดอยคำนั้นกลับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติสุดท้ายในด้านของความพึงพอใจโดยรวม ไวน์น้ำผึ้งอุดรธานีและชุมพรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับกับไวน์น้ำผึ้งชุมพรและดอยคำ แต่ไวน์น้ำผึ้งอุดรธานีและดอยคำนั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 4.17 กราฟแสดงความพึงพอใจต่อไวน์น้ำผึ้งทั้งสามชนิด

หมายเหตุ a ค่าเฉลี่ยของไวน์น้ำผึ้งชุมพรเทียบกับค่าเฉลี่ยของไวน์น้ำผึ้งดอยคำที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

หมายเหตุ b ค่าเฉลี่ยของไวน์น้ำผึ้งอุดรธานีเทียบกับค่าเฉลี่ยของไวน์น้ำผึ้งดอยคำที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

หมายเหตุ c ค่าเฉลี่ยของไวน์น้ำผึ้งชุมพรเทียบกับค่าเฉลี่ยของไวน์น้ำผึ้งดอยคำที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

หมายเหตุ ns ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

1) จากผลการทดลองหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระ สามารถสรุปได้ว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในช่วงก่อนการหมักจะมีปริมาณมากกว่าหลังการหมักอย่างเห็นได้ชัด พบว่าน้ำผึ้งทั้งสามแหล่งก่อนการหมัก น้ำผึ้งที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดคือ น้ำผึ้งตราดอยคำ ตามด้วยน้ำผึ้งจากชุมพรและน้ำผึ้งอุดรธานี พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ที่ 6.94 6.67 และ 6.58 mg GAE/g ตามลำดับ หลังการหมักพบว่าในน้ำผึ้งที่หมักจากน้ำผึ้งอุดรธานี น้ำผึ้งชุมพรและน้ำผึ้งตราดอยคำ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกอยู่ที่ 1.73 1.25 และ 0.89 ตามลำดับ mg GAE/g และในการทดสอบหาประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งทั้งสามแหล่งก่อนหมัก พบว่าน้ำผึ้งที่มีประสิทธิภาพยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดคือ น้ำผึ้งอุดรธานี น้ำผึ้งชุมพร ตามด้วยน้ำผึ้งตราดอยคำ โดยมีค่า IC_{50} 9.12 11.23 และ 12.66 ตามลำดับ และหลังการหมักประสิทธิภาพการยับยั้งที่ดีที่สุดจะเป็นของน้ำผึ้งชุมพร อุดรธานี และดอยคำ ซึ่งมีค่า IC_{50} 11.74 12.35 และ 12.72 ตามลำดับ โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ลดลงนั้นคาดว่าอาจเกิดจากกระบวนการนำน้ำผึ้งมาผสมน้ำอุ่นก่อนกระบวนการหมัก ความร้อนส่วนหนึ่งอาจส่งผลให้เกิดการสูญเสียสารประกอบฟีนอลิกจำนวนหนึ่งลงไปได้ จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระลดลงไปด้วย

2) จากการทดลองประสิทธิภาพในการหมักไวน์ในน้ำผึ้งทั้งสามแหล่ง โดยศึกษาการเจริญเติบโตของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049 การหาค่า pH ค่าความหวาน น้ำตาลรีดิวซ์ แอลกอฮอล์และการทดสอบทางประสาทสัมผัส สามารถสรุปได้ว่า น้ำผึ้งชุมพรนั้นเหมาะสมแก่การหมักไวน์มากที่สุด ซึ่งในกระบวนการหมักยีสต์เจริญเติบโตได้ดีกว่าการใช้น้ำผึ้งอุดรธานีและน้ำผึ้งตราดอยคำ และมีปริมาณเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์มากที่สุด ในขณะที่รสชาตินั้นในไวน์น้ำผึ้งดอยคำได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุด ด้วยรสชาติที่อ่อนและปริมาณแอลกอฮอล์ที่น้อยกว่าส่งผลให้ผู้บริโภครับประทานได้ง่าย ในขณะที่ไวน์ที่หมักจากน้ำผึ้งอุดรจะให้กลิ่นที่หอมมากที่สุด จึงสรุปได้ว่าหากต้องการหมักเพื่อเน้นให้ได้แอลกอฮอล์เปอร์เซ็นต์ที่สูงน้ำผึ้งชุมพรจะเป็นตัวเลือกที่เหมาะสมที่สุด แต่หากเป็นเรื่องของรสชาติการใช้น้ำผึ้งตราดอยคำจะมีความเหมาะสมกว่า แต่ถ้าเน้นเรื่องความหอมจะต้องหมักโดยใช้น้ำผึ้งจากอุดรธานี

5.2 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรคโควิด 19 ทำให้มีข้อจำกัดในเรื่องของระยะเวลา และการเข้ามาปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ จึงทำให้ทำการทดลองได้เพียง 2 ซ้ำ เท่านั้น และผลการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระนั้น ไม่เป็นไปตามทฤษฎี ดังนั้นเพื่อให้การทดลองเป็นไปอย่างครบถ้วนสมบูรณ์ ควรมีการทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดลองที่ได้อีกครั้งหนึ่ง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- ผศ.ดร.ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบุรณ์, สิงหาคม (2548), นิตยสารหมอชาวบ้าน, สารต้านอนุมูลอิสระ จำเป็นต่อร่างกาย อย่างไร, เล่มที่ 316.
- บุญมี กวินเสกสรร, มีนาคม - เมษายน (2536), วารสารวิทยาศาสตร์, ความมหัศจรรย์ของผลิตภัณฑ์จากผึ้ง, หน้า 92-102.
- ชนก ลิ้มปิพิชัย, (2531), วารสารวิทยาศาสตร์, ผลิตภัณฑ์จากผึ้ง, หน้า 197-208.
- ผศ. ดร. อรุณรัตน์ สันติจิติกวินสกุล, บทความวิเคราะห์หมู่ทำหน้าที่, หน้า 38 ย่อหน้าที่ 1.
- ทองสุข คลงมา, (2546), การหาค่ากรด-เบส, หน้า 49.
- Brand-Williams et al., (1995), วิเคราะห์คุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตัวอย่างจากผล มังคุดด้วยวิธี DPPH assays.
- อรชร ไอสันเทียะ, (2557), การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารที่แยกได้จากดอกดาวเรือง, ปัญหาพิเศษ สาขา เคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม, พิษณุโลก.
- Chanut, B. (2013). Extraction, isolation and identification of major flavonoid M from leaf of *Tagetes erecta*. *Silpakorn University Science and Technology Journal*, 7(1), 97.
- Chooklin, S., Boonjan, A., Rodruayruean, D., Chiansong, W. and Sriwilai, S. (2016). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compound from indigenous vegetables in southern Thailand. 54th Kasetsart University Annual Conference, 2-5 February, (2016), Kasetsart University, Bangkok, Thailand.
- Sies H., Oxidative stress: oxidants and antioxidants, (1997), *Experimental Physiology*, page 82(2), 291(5).
- Vertuani S., Angusti A., Manfredini S., (2014), The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview, *Current Pharmaceutical Design*, page 10(25)
- Phuapradit W, Saropala N., (1994), Annual research abstracts and bibliography of non-formal publications.
- Ayoola, G.A., Coker, H.A.B., Adesegun, S.A., Adepoju-Bello, A.A., Obaweya, K., Ezennia, E.C., & Atangbayila, T.O., (2008), *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants, page 7(3), 10(19).
- Dr.Charoen, 2012 Selected Topic Lab – Ebulliometer.
- Al-Mamary, M., Al-Meer, A., and Al-Habori, M. (2002) Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutr. Res.* 22,1041–1047
- ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนานนท์. 2555.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Honey/น้ำผึ้ง [ออนไลน์]. สืบค้นจาก :

<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1155/>

ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนานนท์. 2555.

Yeast/ยีสต์ [ออนไลน์]. สืบค้นจาก :

<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0555/>

ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนานนท์. 2555.

Fermentation/การหมัก [ออนไลน์]. สืบค้นจาก :

<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0316/>

ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนานนท์. 2555.

Phenolic compounds / สารประกอบฟีนอล [ออนไลน์]. สืบค้นจาก :

<https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/>

ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนานนท์. 2555.

Reducing sugar / น้ำตาลรีดิวซ์[ออนไลน์]. สืบค้นจาก :

<https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1056/>

ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนานนท์. 2555.

Antioxidant / สารต้านออกซิเดชัน[ออนไลน์]. สืบค้นจาก :

<https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0188/>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

1. การคำนวณปริมาณสารฟีนอลิกรวม

ตารางที่ ก-1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร ของน้ำฝั้ก่อนกระบวนการหมักที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวม

น้ำฝั้	ค่าดูดกลืนแสง 765 นาโนเมตร		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
น้ำฝั้จากจังหวัดชุมพร	1.988	1.978	1.978
น้ำฝั้จากจังหวัดอุดรธานี	1.963	1.96	1.963
น้ำฝั้ตราดอยคำ	2.055	2.04	2.050

ตารางที่ ก-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร ของน้ำฝั้หลังกระบวนการหมักที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวม

น้ำฝั้	ค่าดูดกลืนแสง 765 นาโนเมตร		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
น้ำฝั้จากจังหวัดชุมพร	0.667	0.697	0.676
น้ำฝั้จากจังหวัดอุดรธานี	0.783	0.813	0.793
น้ำฝั้ตราดอยคำ	0.593	0.601	0.598

การคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวม

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมของน้ำฝั้ในหน่วย mg GAE/g โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาแทนในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

$$\text{จะได้สมการเส้นตรง } Y = 0.0012x + 0.3821$$

จากสมการเส้นตรง $Y = (\text{slope})x + c$ นำไปแทนในสมการหาปริมาณฟีนอลิกรวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{mg GAE/g} = \left(\frac{OD765 - C}{\text{slope}} \right) \frac{\text{dilution} \times \text{volume}}{1000 \times W}$$

W คือ น้ำหนัก (g)

C คือ ค่าคงที่ของสมการเส้นตรง (ในที่นี้คือ 0.3821)

Slope คือ ความชันของกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (ในที่นี้คือ 0.0012)

Volume คือ ปริมาณสารตัวอย่างทั้งหมด

Dilution คือ ค่าการเจือจางตัวอย่างก่อนนำไปวิเคราะห์

ตารางที่ ก-3 ปริมาณฟีนอลิกรวมของน้ำผึ้งก่อนกระบวนการหมัก

น้ำผึ้ง	ปริมาณสารฟีนอลิกรวม mg GAE/g
น้ำผึ้งจากจังหวัดชุมพร	1.98±0.01
น้ำผึ้งจากจังหวัดอุดรธานี	1.96±0.003
น้ำผึ้งตราดอยคำ	2.04±0.015

ตารางที่ ก-4 ปริมาณฟีนอลิกรวมของน้ำผึ้งก่อนกระบวนการหมัก

น้ำผึ้ง	ปริมาณสารฟีนอลิกรวม mg GAE/g
น้ำผึ้งจากจังหวัดชุมพร	0.682±0.03
น้ำผึ้งจากจังหวัดอุดรธานี	0.798±0.03
น้ำผึ้งตราดอยคำ	0.597±0.008

2. การคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การคำนวณ DPPH radical scavenging (%)

$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = \left(\frac{A_0 - A_s}{A_0} \right) \times 100$$

A₀ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ

A_s คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งก่อนกระบวนการหมัก

น้ำผึ้ง	ความเข้มข้น mg/L														
	0			0.2			0.4			0.6			0.8		
	OD ₅₁₇ nm			OD ₅₁₇ nm			OD ₅₁₇ nm			OD ₅₁₇ nm			OD ₅₁₇ nm		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
ชุมพร	1.200	1.167	1.162	1.112	1.043	1.040	1.066	1.021	1.018	1.069	1.027	1.015	0.898	0.927	0.912
อุดรธานี	1.131	1.104	1.078	1.101	1.055	1.036	1.072	1.044	1.017	1.052	1.016	1.002	0.664	0.679	0.620
ดอยคำ	1.129	1.097	1.064	1.100	1.065	1.030	1.096	1.071	1.046	1.086	1.036	0.986	0.784	0.767	0.750

ตารางที่ ก-6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรที่ใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำผึ้งหลังกระบวนการหมัก

น้ำผึ้ง	ความเข้มข้น mg/L														
	0			0.2			0.4			0.6			0.8		
	OD ₅₁₇ nm			OD ₅₁₇ nm			OD ₅₁₇ nm			OD ₅₁₇ nm			OD ₅₁₇ nm		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
ชุมพร	1.045	1.107	1.089	0.925	0.923	0.924	0.93	0.916	0.924	0.898	0.9	0.904	0.882	0.87	0.867
อุดรธานี	0.998	0.977	0.945	0.877	0.848	0.826	0.856	0.852	0.847	0.815	0.827	0.829	0.787	0.776	0.779
ดอยคำ	1.054	1.025	1.006	0.923	0.904	0.895	0.895	0.882	0.879	0.886	0.854	0.842	0.87	0.85	0.836

ตารางที่ ก-7 DPPH radical scavenging (%) ของสารต้านอนุมูลอิสระก่อนกระบวนการหมัก

น้ำผึ้ง	ความเข้มข้น	DPPH radical scavenging (%)
ชุมพร	0	0.00±0.00
	0.2	9.49±1.87
	0.4	12.02±0.74
	0.6	11.85±0.88
	0.8	22.42±2.43
อุดรธานี	0	0.00±0.00
	0.2	3.66±0.92
	0.4	5.44±0.22
	0.6	7.34±0.55
	0.8	40.76±2.05
ดอยคำ	0	0.00±0.00
	0.2	2.89±0.31
	0.4	2.33±0.62
	0.6	5.57±1.76
	0.8	30.05±0.52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-8 DPPH radical scavenging (%) ของสารต้านอนุมูลอิสระหลังกระบวนการหมัก

น้ำผึ้ง	ความเข้มข้น	DPPH radical scavenging (%)
ชุมพร	0	0
	0.2	14.41±2.64
	0.4	14.47±3.17
	0.6	16.58±2.34
	0.8	19.10±3.10
อุดรธานี	0	0
	0.2	12.64±0.54
	0.4	12.46±1.95
	0.6	15.32±3.03
	0.8	19.76±1.92
ดอยคำ	0	0
	0.2	11.75±0.69
	0.4	13.88±1.23
	0.6	16.30±0.37
	0.8	17.14±0.28

3. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

3.1 การสร้างกราฟมาตรฐานกลูโคส

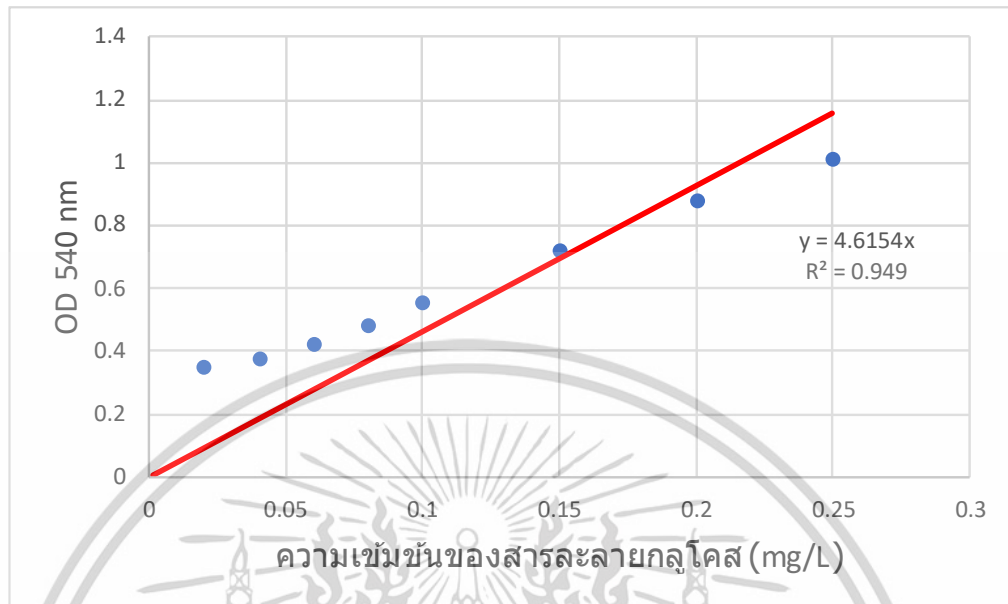
1. ละลายกลูโคสมาตรฐาน 0.05 g ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 50 ml จะได้สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1 mg/L

2. เจือจางสารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1 mg/L ให้ได้ 0.01 0.02 0.04 0.06 0.08 0.10 0.15 0.20 และ 0.25

วิธีการทดลอง

ปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 5 ml ผสมกับน้ำกลั่น 10 ml จากนั้นเติมสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid 0.25 ml เขย่าให้เข้ากัน ปิดฝาแล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลาจึงนำไปหยุดปฏิกิริยาโดยการนำไปแช่ใน

อ่างน้ำเย็นทันที รอให้เย็นที่อุณหภูมิห้องจึงนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร



ภาพที่ ก-1 กราฟกลูโคสมาตรฐาน

จะได้สมการเส้นตรง $y = 4.6154x$ โดยที่ x คือความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส และ y คือค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 540 นาโนเมตร ซึ่งสามารถแปลงเป็นสมการหาความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสจากค่าการดูดกลืนแสงได้ว่า

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส (mg/L)} = \frac{OD\ 540\ nm}{4.6154}$$

ตัวอย่างการคำนวณความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส เมื่อ $OD_{540\ nm}$ มีค่า 0.46154

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส (mg/L)} = \frac{0.46154}{4.6154}$$

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส (mg/L)} = 0.1\ \text{mg/L}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
แบบประเมินความพึงพอใจ

แบบประเมินความพึงพอใจของเครื่องดื่มไวน์น้ำผึ้ง ณ ห้องปฏิบัติการ B110
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังวิทยาเขตชุมพร เขตอุตสาหกรรม

เกณฑ์การประเมิน

(5) มากที่สุด (4) มาก (3) ปานกลาง (2) น้อย (1) น้อยที่สุด

ข้อมูลทั่วไปของผู้ประเมิน

ช่วงอายุผู้ประเมิน : () 20 – 30 () 30 – 40 () 40 – 50 () มากกว่า 50 ปี

เพศ : () ชาย () หญิง

โปรดให้คะแนนลงในช่องที่ตรงกับความคิดเห็นของท่าน

รายการเครื่องดื่ม	ความคิด สร้างสรรค์	รสชาติของ เครื่องดื่ม	กลิ่นของ เครื่องดื่ม	สีของเครื่องดื่ม
ไวน์น้ำผึ้งชุมพร				
ไวน์น้ำผึ้งอุดรธานี				
ไวน์น้ำผึ้งดอยคำ				

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติการศึกษา



ชื่อ-นามสกุล	นางสาวพิมพ์อนงค์ พันธุ์จินตาวรรณ
วันเดือนปีเกิด	13 สิงหาคม 2542
ที่อยู่	บ้านเลขที่ 5 ม.2 บ้านหนองหิน ตำบลนาดี อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี รหัสไปรษณีย์ 41000
ประวัติการศึกษา	ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสตรีราชินูทิศ สายวิทย์-คณิต ปีการศึกษา 2560
E-mail	Pimanong.000@hotmail.com 61552008@kmitl.ac.th

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้