การตรวจติดตามกิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู

MONITORING OF ANTIOXIDANT ACTIVITY DURING VINEGAR DRINK PRODUCTION

น้ำผึ้น ไทยวงษ์
NUMPHON THAIWONG

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2551

KMITL-2008-AI-M-054-805

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การตรวจติดตามกิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู

MONITORING OF ANTIOXIDANT ACTIVITY DURING VINEGAR DRINK PRODUCTION

น้ำฝน ไทยวงษ์

NUMPHON THAIWONG

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 81341
วัน,เดือน,ปี 11 มิ.ย. 2551

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2551

KMITL-2008-AI-M-054-305

MONITORING OF ANTIOXIDANT ACTIVITY DURING VINEGAR DRINK PRODUCTION

NUMPHON THAIWONG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SANITATION

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LABKRABANG

2008

KMITL-2008-AI-M-054-305

COPYRIGHT 2008

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LABKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การตรวจติดตามกิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู
นักศึกษา	นางสาวน้ำฝน ไทยวงษ์
รหัสประจำตัว	47067720
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2551
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ติดตามปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH ในระหว่างกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู โดยแบ่งการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระออกเป็น 4 ส่วน ประกอบด้วย ข้าวโพดฝักอ่อน ไวน์ข้าวโพดฝักอ่อน น้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวโพดฝักอ่อน และเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู ซึ่งปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในข้าวโพดฝักอ่อนมีค่าเท่ากับ 435.8 มิลลิกรัม/100 กรัม ส่วนในน้ำหมักข้าวโพดฝักอ่อนก่อนที่จะหมักเป็นไวน์มีค่าเท่ากับ 85.7 มิลลิกรัม/ลิตร สมมูลย์กรดแกลลิค และเมื่อผ่านกระบวนการหมักได้เป็นไวน์ในชั่วโมงที่ 176 มีค่าเท่ากับ 104.2 มิลลิกรัม/ลิตร สมมูลย์กรดแกลลิค หลังจากนั้นได้นำไวน์มาทำการปรับสภาพไวน์ เพื่อให้มีความเหมาะสมก่อนที่จะหมักต่อเป็นน้ำส้มสายชู โดยปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 44.8 มิลลิกรัม/ลิตร สมมูลย์กรดแกลลิค และเมื่อหมักได้เป็นน้ำส้มสายชูแล้วในชั่วโมงที่ 92 มีค่าเท่ากับ 32.9 มิลลิกรัม/ลิตร สมมูลย์กรดแกลลิค เมื่อนำน้ำส้มสายชูที่ได้มาปรุงเป็นเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูมีค่าเท่ากับ 37.3 มิลลิกรัม/ลิตร สมมูลย์กรดแกลลิค ซึ่งการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในกระบวนการหมักไวน์มีค่าเพิ่มขึ้น ขณะที่ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูมีค่าลดลง ส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในกระบวนการหมักไวน์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดจาก 24.3% เป็น 29.4% เช่นเดียวกับในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูที่ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีแนวโน้มลดลงจาก 50.5% เป็น 48.8% และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูมีค่าเท่ากับ 25.25%

Thesis Title	Monitoring of Antioxidant Activity During Vinegar Drink Production
Student	Miss Numphon Thaiwong
Student ID.	47067720
Degree	Master of Science
Program	Food Sanitation
Year	2008
Thesis Advisor	Assist. Prof. Dr. Warawut Krusong

ABSTRACT

In this study, the antioxidant activities during vinegar drink production from total polyphenol and antiradical activity (DPPH radical-scavenging assay) in babycorn, babycorn wine, vinegar from babycorn wine and vinegar drink were investigated. Total polyphenol content in babycorn is 435.8 mg/100 g. At the beginning of babycorn wine fermentation, the 85.74 mg/L of gallic acid equivalents (GAE) was obtained. The increase of GAE to 104.24 mg/L was found at the end of wine fermentation (176 hours). Total polyphenol of babycorn wine adjusted for vinegar fermentation at 0 hour was 44.8 mg/L GAE and decreased to 32.9 mg/L GAE at 92 hour of fermentation. However, the vinegar drink contained 37.27 mg/L GAE due to the acceptable formular. The increase in total polyphenol content by the fermentation of wine process from 85.7 to 104.2 mg/L GAE but decrease in the acetification process from 44.8 to 32.9 mg/L GAE was observed. These results implied that the antiradical activity (DPPH radical-scavenging assay) related to total polyphenol. The increase of antiradical activity was found during fermentation of babycorn wine 24.3 to 29.4%) but the decrease was found in the acetification process (50.5 to 48.8%) and vinegar drink product (25.25%).

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง ที่ได้ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และได้ให้ความรู้ คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่างๆ ตลอดจนความช่วยเหลือในด้านอื่นๆ แก่ข้าพเจ้ามาโดยตลอด ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.สุเมธ ตันตระเธียร ประธานคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.อดิศร เสวตวิวัฒน์ และ รศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม คณะกรรมการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำแนะนำในการแก้ไขข้อบกพร่อง ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสาทความรู้ให้แก่ข้าพเจ้า ตลอดระยะเวลาของการศึกษา ทำให้ข้าพเจ้าประสบความสำเร็จ

ขอกราบขอบพระคุณ บริษัท โมเดอร์นฟู้ดอินดัสตรี้ จำกัด และ บริษัท ไทยสพิริทอินดัสตรี จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องการลาศึกษาต่อ และบริษัท แอกโกร-ออน (ไทยแลนด์) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างในทุกขั้นตอนของกระบวนการหมักน้ำส้มสายชู และค่าใช้จ่ายในด้านสารเคมี

ขอขอบพระคุณคุณอภิญญา ยุทธนาวา และครอบครัวยุทธนาวาทุกท่าน ตลอดจนพี่ๆ น้องๆ นักศึกษาสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง น้องๆ เพื่อนร่วมงานทุกคนและบุคคลที่ผู้วิจัยไม่ได้กล่าวไว้ในที่นี้ที่ให้การสนับสนุน ตลอดจนความช่วยเหลือในด้านต่างๆ และเป็นกำลังใจให้ตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ น้องชายและน้องสาว อันเป็นที่รักยิ่งที่ได้ให้กำลังใจให้การสนับสนุนและให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

น้ำฝน ไทยวงษ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II

กิตติกรรมประกาศ.....III

สารบัญ.....IV

สารบัญตาราง.....VI

สารบัญรูป.....VII

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา.....1

1.2 วัตถุประสงค์.....2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....2

บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 กรดอะซิติค (Acetic acid).....3

2.2 น้ำส้มสายชู (Vinegar).....4

2.3 เครื่องดื่มน้ำส้มสายชู (Vinegar drink).....8

2.4 ประโยชน์ทางการแพทย์ในการบริโภคน้ำส้มสายชูและกรดอะซิติค.....8

2.5 อนุมูลอิสระ.....10

2.6 สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนติออกซิแดนซ์ (Antioxidants).....11

2.7 รายงานการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มสายชูหรือผลิตภัณฑ์ที่คล้ายคลึงกัน.....12

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย.....14

3.1 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย.....14

3.2 วิธีการดำเนินงาน.....17

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....22

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 บทสรุป 31

บรรณานุกรม.....33

ภาคผนวก.....38

ก. วิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH 38

ข. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด.....39

ค. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรด.....41

ง. วิธีการวิเคราะห์ค่า pH.....43

จ. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล.....44

ฉ. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยอัลบูลิโอมิเตอร์.....46

ช. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่เหลืออยู่.....48

ซ. ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในกระบวนการหมักไวน์และกระบวนการหมักน้ำส้มสายชู.....49

ฌ. ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีในไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ชั่วโมงต่างๆ และน้ำส้มสายชูที่ชั่วโมงต่างๆ 52

ประวัติผู้เขียน.....54

สารบัญตาราง

หน้า

ภาพที่ 4.1 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู.....30
ภาพที่ ข1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิคที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค.....39
ภาพที่ ซ1 เปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในกระบวนการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร.....49
ภาพที่ ซ2 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในกระบวนการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน.....50
ภาพที่ ซ3 เปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร.....51
ภาพที่ ซ4 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน.....51
ภาพที่ ฌ1 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีในไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ชั่วโมงต่างๆ.....52
ภาพที่ ฌ2 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีในน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ชั่วโมงต่างๆ.....52

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการสกัดข้าวโพดฝักอ่อน.....18

ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการหมักน้ำส้มสายชูจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน.....19

ภาพที่ 4.1 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (%) ในสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อน 8%, 10% และ 12% (น้ำหนัก/ปริมาตร).....22

ภาพที่ 4.2 คุณสมบัติทางเคมีระหว่างการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน.....23

ภาพที่ 4.3 การสังเคราะห์เอทานอล.....24

ภาพที่ 4.4 เปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในระหว่างการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน.....25

ภาพที่ 4.5 คุณสมบัติทางเคมีระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน.....27

ภาพที่ 4.6 เปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน.....29

ภาพที่ ข1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิค.....40

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ตลาดเครื่องดื่มในปัจจุบันมีการขยายตัวและแข่งขันกันเพิ่มมากขึ้น ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มในแต่ละตราสินค้าจึงมีการสร้างความแตกต่าง และนำคุณสมบัติที่เป็นข้อดีของผลิตภัณฑ์ออกมานำเสนอเพื่อใช้เป็นจุดเด่นในการขาย อีกทั้งผู้บริโภคส่วนใหญ่มีแนวโน้มในการให้ความสำคัญกับการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพเพิ่มมากขึ้น การแข่งขันทางการตลาดเครื่องดื่มจึงมุ่งเน้นที่ประโยชน์ที่เกิดขึ้นต่อร่างกายเมื่อมีการบริโภคผลิตภัณฑ์ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระจัดเป็นสารชนิดหนึ่งที่ได้รับความนิยมในการบริโภคเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระที่มีส่วนทำให้เกิดโรคมะเร็ง โรคหัวใจ โรคเบาหวาน และโรคอื่นๆ รวมทั้งเป็นสาเหตุของความแก่ (Aging) ได้ สารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในพืชทั่วไป โดยส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่มีส่วนประกอบของสารฟีนอลิกที่มีอยู่ในพืชนั้นๆ ดังนั้นเครื่องดื่มที่ใช้พืช ผลไม้ ทั้งผลเป็นวัตถุดิบเริ่มต้น เช่น ไวน์ แอปเปิ้ลไซเดอร์ น้ำส้มสายชู จึงเป็นเครื่องดื่มจากธรรมชาติที่มีสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเป็นผลให้เครื่องดื่มดังกล่าวมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในปี พ.ศ. 2549 เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูได้รับความนิยมมากในประเทศญี่ปุ่น เนื่องจากชาวญี่ปุ่นมีความเชื่อมานานแล้วว่าการบริโภคน้ำส้มสายชูมีประโยชน์ต่อร่างกายมาก โดยส่วนใหญ่การบริโภคจึงมุ่งเน้นเพื่อสุขภาพ แต่การบริโภคน้ำส้มสายชูโดยตรงค่อนข้างลำบาก ทำให้ต้องมีการพัฒนาและปรับปรุงรสชาติเป็นเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของน้ำส้มสายชู (Vinegar drink) เพื่อสะดวก เหมาะสม และความพึงพอใจของผู้บริโภค จากการบริโภคเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูที่เป็นที่นิยมเพิ่มขึ้นนี้ ทำให้มีการศึกษาเกี่ยวกับคุณประโยชน์ในเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูที่มีต่อมนุษย์ เช่น ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง สามารถควบคุมระบบการเผาผลาญพลังงาน ช่วยลดน้ำหนัก ลดไขมัน ลดโคเลสเตอรอล ลดปริมาณน้ำที่ตกค้างในร่างกาย และควบคุมดูแลความดันเลือด (en.wikipedia.org/ wiki/Vinegar-74k ; Fontenot, 1997 ; www.anyvitamins.com) และจากข้อมูลการศึกษาที่มีเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องยิ่งส่งผลให้ความนิยมในการบริโภคเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน ซึ่งแนวโน้มในการบริโภคของผู้บริโภคชาวไทยเริ่มให้ความสนใจการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพเพิ่มมากขึ้นดังนั้นเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูจึงเริ่มมีวางจำหน่ายในประเทศไทย (www.bangkokbizweek. com) การตรวจติดตามกิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นแนวทางในการควบคุมปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในแต่ละขั้นตอนกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู เพื่อเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคมากที่สุด

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อติดตามปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ในขั้นตอนกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู โดยครอบคลุมขั้นตอนข้าวโพดฝักอ่อน การเตรียมน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน กระบวนการผลิตไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน และกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูหมัก

1.3 ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการตรวจติดตามปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total polyphenol) และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของน้ำส้มสายชู (Vinegar drink) จากกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจนถึงผลิตภัณฑ์สุดท้าย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ที่มีในเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู
2. ทำให้ทราบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในวัตถุดิบเริ่มต้นในการหมักไวน์ การผลิตน้ำส้มสายชูหมัก จนกระทั่งเป็นเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู

บทที่ 2
ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 กรดอะซิติค (Acetic acid)

กรดอะซิติค หรือที่รู้จักในชื่อ ethanoic acid เป็นสารประกอบอินทรีย์มีสูตรดังนี้ CH_3COOH สารที่อธิบายกลิ่นรสของกรดอะซิติคได้ดี คือ น้ำส้มสายชู ซึ่งมีรสเปรี้ยว และกลิ่นฉุนรุนแรง กรดอะซิติคบริสุทธิ์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมจะมีลักษณะเป็นของเหลวไม่มีสี มีจุดเยือกแข็งที่ 16.7°C (62°F) หรือหากอยู่ในสถานะของแข็งจะมีลักษณะเป็นผลึกของแข็งไม่มีสี กรดอะซิติคมีฤทธิ์กัดกร่อน ไอระเหยของกรดทำให้นัยน์ตาเกิดการระคายเคือง อาจทำให้เยื่อบุจมูกไหม้ได้ และอาจลุกลามไปถึงปอด หากได้รับในปริมาณที่มากเกินไป แต่อย่างไรก็ตามกรดอะซิติคเป็นกรดอ่อน และมีประโยชน์มากมาย ทั้งในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่ม อุตสาหกรรมการผลิตขวดพลาสติก Polyethylene อุตสาหกรรมการผลิตฟิล์ม อุตสาหกรรมการทอผ้า การฟอกย้อม และนำมาเจือจางเพื่อใช้ในการบริโภค (en.wikipedia.org/wiki/Acetic_acid - 99k)

สารละลายกรดอะซิติคที่มีปริมาณกรดอะซิติค 5-18% โดยน้ำหนัก เรียกว่า น้ำส้มสายชู โดยส่วนใหญ่ผู้บริโภคจะใช้น้ำส้มสายชูเป็นเครื่องปรุงรส และใช้หมักดอง ผัก ผลไม้ และอาหารอื่นๆ หากเป็นน้ำส้มสายชูที่ใช้เป็นเครื่องปรุงรสในห้องครัว จะเป็นสารละลายกรดอะซิติคเจือจางประมาณ 5-8% ในขณะที่อาหารหมักดองทั่วไปผู้ผลิตจะใช้กรดอะซิติคเจือจางที่ความเข้มข้นมากกว่านี้ ดังนั้นประโยชน์ของกรดอะซิติคที่นำมาเจือจางเป็นน้ำส้มสายชูนั้นจึงมีมากมาย และได้ถูกมนุษย์นำมาใช้ตั้งแต่สมัยโบราณ

2.2 น้ำส้มสายชู (Vinegar)

น้ำส้มสายชู (vinegar) เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่ผลิตขึ้นมาจากกระบวนการหมัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการหมักในสภาพอาหารเหลว น้ำส้มสายชูเป็นที่รู้จักกันมาตั้งแต่สมัยโบราณเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ประเภทไวน์ โดยน้ำส้มสายชูเกิดจากการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ไวน์ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในสกุล Acetobacter ซึ่งก่อให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในไวน์ให้เป็นกรดอะซิติคในสภาพที่มีออกซิเจน ทำให้ไวน์ที่ได้นั้นมีรสเปรี้ยว ทำให้เรียกผลิตภัณฑ์นี้ว่า "น้ำส้มสายชู : Vinegar" มาจากภาษาฝรั่งเศสว่า "Vinaigre" ซึ่งมีความหมายว่าไวน์เปรี้ยว (Sour wine) (วราวุฒิ และ รุ่งนภา, 2532)

โดยทั่วไปน้ำส้มสายชูจะมีระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติคอยู่ในช่วง 4-8% โดยปริมาตร น้ำส้มสายชูจากธรรมชาติมีปริมาณของกรดทาร์ทาริก (tartaric acid), กรดซิตริค (citric acid) และกรดอื่นๆ รวมอยู่ด้วยในปริมาณเล็กน้อย (en.wikipedia.org/wiki/Vinegar-74k)

คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มสายชูหมัก

ค่า pH ของน้ำส้มสายชูหมัก โดยทั่วไปอยู่ในช่วง 2.0-3.5 ซึ่งเป็นผลมาจากความเข้มข้นของกรดอะซิติค สำหรับน้ำส้มสายชูที่มีอยู่ในท้องตลาดทั่วไป มีค่า pH ประมาณ 2.4 และมีค่าความหนาแน่น (Density) เท่ากับ 0.96 g/ml (en.wikipedia.org/wiki/Vinegar-74k)

กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

น้ำส้มสายชูหมักเกิดจากการออกซิเดชันของเอทานอลในไวน์ (wine) ไซเดอร์ (cider) เบียร์ (beer) น้ำผลไม้หมัก หรือเครื่องดื่มที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ ส่วนน้ำส้มสายชูที่ใช้ในทางการค้า ใช้วิธีการผลิต 2 วิธี โดยการหมักแบบเร็ว (fast fermentation processes) และการหมักแบบช้า (slow fermentation processes) โดยทั่วไปการหมักแบบช้าเป็นวิธีการหมักแบบพื้นบ้าน ใช้เวลาในการหมักมากกว่าหลายสัปดาห์หรือเป็นเดือน ระยะเวลาในการหมักที่ยาวนานจะเกิดการสะสมของเชื้อแบคทีเรียอะซิติค (Acetic acid bacteria) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ไม่สร้างสารพิษ (nontoxic) รวมกับเซลลูโลส (Cellulose) ซึ่งมีลักษณะเป็นก้อนเหนียวคล้ายโคลน เรียกว่า Mother of vinegar ส่วนวิธีการหมักแบบเร็วจะใช้ Mother of vinegar เติมลงในของเหลวและเติมอากาศให้มีการหมุนเวียนหรือใช้กังหันเพื่อเพิ่มปริมาณอากาศให้เกิดการหมักที่เร็วขึ้น วิธีการหมักแบบเร็วสามารถผลิตน้ำส้มสายชูได้ภายใน 20 ชั่วโมง ถึง 3 วัน ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำส้มสายชูส่วนใหญ่จะกรองและพาสเจอร์ไรซ์ก่อนที่จะบรรจุ (en.wikipedia.org/wiki/Vinegar-74k)

สรุปปฏิกิริยาการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติดได้ดังนี้

$$C_2H_5OH + O_2 \longrightarrow CH_3COOH + H_2O$$

ชนิดของน้ำส้มสายชูหมัก (en.wikipedia.org/wiki/Vinegar-74k)

1. White vinegar

สามารถทำได้โดยการออกซิไดซ์ (oxidize) แอลกอฮอล์กลั่น เป็นน้ำส้มสายชูที่ไม่มีสารตัวอื่นละลายปนอยู่ในน้ำเลยนอกจากกรดอะซิติด เป็นน้ำส้มสายชูที่อยู่ทั่วไปตามท้องตลาด ส่วนมากมีความเข้มข้นของกรดอะซิติดเท่ากับ 5%

2. Malt vinegar

ผลิตจากการหมักข้าวบาร์เล่ย์ โดยแป้งในธัญพืชถูกเปลี่ยนเป็นมอลโตส (maltose) เมื่อนำสุราที่ได้จากข้าวหมักมาต้ม และหมักต่อเป็นน้ำส้มสายชู ซึ่งแต่ละชนิดจะขึ้นกับเวลาที่ใช้ในการหมัก โดยทั่วไป Malt vinegar มีสีน้ำตาลอ่อน

ส่วนใหญ่ Malt vinegar ที่ไม่ได้ปรุง จะมีกรดอะซิติด 3-8% มีกรดซิตริก 1-3% โดยมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลคาราเมล ได้รับความนิยมในประเทศอังกฤษตอนเหนือ

3. Wine vinegar

ผลิตจากไวน์แดงหรือไวน์ขาว ส่วนใหญ่จะถูกนำมาใช้ในกลุ่มประเทศแถบเมดิเตอร์เรเนียนและยุโรปกลาง Wine vinegar ที่มีคุณภาพดี ต้องใช้ระยะเวลาในการหมักในถังไม้มากกว่า 2 ปี ซึ่งส่วนใหญ่จะถูกนำมาประกวด ดังนั้น Wine vinegar ที่ได้จะมีกลิ่นรสหอมหวาน แนวโน้มความเป็นกรดของ Wine vinegar มีค่าน้อยกว่า White vinegar หรือ Cider vinegar

4. Apple cider

เป็นน้ำส้มสายชูที่หมักจากน้ำแอปเปิ้ล น้ำส้มสายชูหมักจากน้ำแอปเปิ้ลมีปริมาณวิตามินC, E, B1, B2, B6, P และเบต้าคาโรทีนสูง นอกจากนั้นยังมีเกลือแร่และธาตุที่มีน้อย เช่น โปตัสเซี่ยม แคลเซี่ยม ฟอสฟอรัส เหล็ก และทองแดง รวมอยู่ด้วย

5. Fruit Vinegar

ผลิตจากไวน์ผลไม้ ไม่มีการเติมสารตกแต่งกลิ่นรส (Flavor) รสชาติของ Fruit wine จะมีรสชาติของ Black current, Raspberry, Quince และ Tomato โดยทั่วไปในผลิตภัณฑ์สุดท้ายของน้ำส้มสายชูชนิดนี้จะมีรสชาติของผลไม้หลงเหลืออยู่ ส่วนมากน้ำส้มสายชูนี้จะผลิตในประเทศแถบยุโรป ซึ่งตลาดของน้ำส้มสายชูชนิดนี้จะมีราคาสูงเฉพาะผลไม้บางชนิดเท่านั้น (ตรงกันข้ามกับ Non-fruit vinegar ที่แช่ผลไม้ลงในน้ำส้มหรือใช้สารตกแต่งกลิ่นรส)

6. Balsamic vinegar

น้ำส้มสายชูชนิดนี้มีลักษณะเด่นในเรื่องกลิ่น เป็นน้ำส้มสายชูพื้นเมืองที่มีมานาน ผลิตในเมือง Modena ประเทศอิตาลี ผลิตจากน้ำผลไม้เข้มข้น ถ้าหากเป็นองุ่น จะต้องเป็นองุ่นขาว

เท่านั้น (โดยเฉพาะสายพันธุ์ Trebbiano) มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลดำ และมีกลิ่นรุนแรง รสหวาน และเพื่อให้ได้น้ำส้มสายชูที่มีคุณภาพดี ต้องใช้เวลาและถังไม้ที่เหมาะสมในการหมัก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของไม้ เช่น Oak, Mulberry, Chestnut, Cherry, Juniper, Ash และ Acacia เป็นต้น

Balsamic vinegar มีอายุในการหมักระหว่าง 3-12 ปี และยิ่งมีอายุมากยิ่งมีราคาแพง โดยทั่วไป Balsamic vinegar ที่มีซื้อขายกันในตลาด จะใช้น้ำผลไม้เข้มข้นหรือน้ำองุ่นเข้มข้นผสมกับน้ำส้มสายชูเข้มข้น และนำมาผสมกับคาราเมลและน้ำตาล

7. Rice vinegar

น้ำส้มสายชูชนิดนี้เป็นที่นิยมใช้ในการปรุงอาหารมากทางแถบประเทศเอเชียตะวันออก และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีลักษณะสีขาว (ของเหลวเหลืองใส) แดง และดำ ตามแต่ละชนิด ชาวญี่ปุ่นใช้ในการเตรียมกับข้าวที่ใช้รับประทานกับซูชิ เพราะเป็นน้ำส้มสายชูหมักที่มีรสเบาบาง

Red rice vinegar เป็นน้ำส้มสายชูหมักที่มีสีแดง ซึ่งเกิดจาก Red yeast rice ส่วน Black rice vinegar ได้รับความนิยมมากในประเทศจีน ถึงแม้ว่าจะผลิตในประเทศญี่ปุ่น สามารถใช้แทน Balsamic vinegar ได้

8. Coconut vinegar

ผลิตจาก Toddy ของ Coconut palm ถูกนำมาใช้ปรุงอาหารกันอย่างกว้างขวางในประเทศแถบเอเชียตะวันออก (โดยเฉพาะฟิลิปปินส์ ซึ่งเป็นประเทศผู้ผลิตรายใหญ่) และในประเทศอินเดีย มีลักษณะเป็นของเหลวสีขาวขุ่น มีรสชาติเฉพาะตัวและแสดงรสกรดเพียงเล็กน้อย

9. Cane vinegar

ผลิตจากน้ำตาลอ้อย นิยมใช้มากที่สุดในแถบ Ilocos Region ซึ่งอยู่ในแถบฟิลิปปินส์ตอนเหนือ (เรียกว่า Sukang iloko) ถึงแม้ว่าสามารถผลิตได้ในแถบ ประเทศฝรั่งเศสและอเมริกา มีสีเหลืองเข้มไปจนถึงน้ำตาลทอง และมีกลิ่นสุกแบบหอมหวาน คล้ายกับ Rice vinegar แต่ให้รสชาติที่สดชื่น แต่ในทางตรงกันข้ามมีรสไม่หวานกว่าน้ำส้มหมักอื่นๆ ไม่มีการเติมน้ำตาล

10. Raisin vinegar

เป็นน้ำส้มสายชูที่ผลิตจากลูกเกด ถูกใช้ในครัวเรือนในประเทศแถบตะวันออกกลาง และผลิตในประเทศตุรกี มีลักษณะสีน้ำตาลขุ่น และมีรสชาตินุ่มนวล กลมกล่อม

11. Date vinegar

เป็นน้ำส้มสายชูหมักที่ผลิตจากอินผลัม เป็นน้ำส้มสายชูพื้นเมืองของประเทศแถบตะวันออกกลาง

12. Beer vinegar

เป็นน้ำส้มสายชูที่ผลิตจากเบียร์ ผลิตในประเทศเยอรมัน ออสเตรีย และเนเธอร์แลนด์ แต่ละชนิดมีรสชาติที่แตกต่างกันขึ้นกับวัตถุดิบที่ใช้ แต่สามารถอธิบายได้ว่ามีรสของข้าวหมัก น้ำส้มสายชูที่ผลิตในแถบบาวาเรีย มีสีทองอ่อน และมีรสชัดเจนแต่กลิ่นไม่รุนแรง

13. Honey vinegar

เป็นน้ำส้มสายชูที่ผลิตจากน้ำผึ้ง ซึ่งหายาก ผลิตในประเทศอิตาลีและฝรั่งเศส

14. Chinese vinegar

เป็นน้ำส้มสายชูหมักที่ผลิตจากข้าวจ้าว ข้าวสาลี ข้าวฟ่าง หรือได้จากการนำทั้งหมดมาผสมกัน โดยน้ำส้มสายชูชนิดนี้มีสีดำเหมือนน้ำหมึก มีรสของข้าวหมัก ซึ่งแต่ละสูตรจะมีรสชาติเฉพาะ โดยที่อาจเติมน้ำตาล เครื่องเทศหรือสีคาราเมล

15. Flavored vinegar

เป็นน้ำส้มสายชูที่ได้รับความนิยมมาก เป็นการแช่ Raspberries, Blueberries หรือ Figs (หรืออาจจะเป็นผลไม้อื่นๆ ซึ่งให้กลิ่นรสที่แตกต่างกันออกไป)

16. Herbs vinegar

เป็นน้ำส้มสายชูที่มีกลิ่นรสของสมุนไพร ซึ่งได้รับความนิยมในกลุ่มประเทศแถบเมดิเตอร์เรเนียน สมุนไพรที่นิยมคือ Thyme หรือ Oregano น้ำส้มสายชูชนิดนี้สามารถเตรียมได้เอง โดยเติมสมุนไพรที่ให้กลิ่นรสสดชื่น โดยทั่วไปน้ำส้มสายชูชนิดนี้จะมีสีอ่อนและรสชาตินุ่มนวล เหมือนกับ White wine

17. Sweetened vinegar

เป็นน้ำส้มสายชูที่ชนกลุ่ม Cantonese ผลิตขึ้นจากไวน์จากข้าว น้ำตาล และสมุนไพร รวมทั้งขิง cloves และสมุนไพรอื่นๆด้วย

18. Spiced vinegar เป็นน้ำส้มจากประเทศฟิลิปปินส์ มีรสชาติของพริกสด หอมใหญ่ และกระเทียม

2.3 เครื่องดื่มน้ำส้มสายชู (Vinegar drink)

เครื่องดื่มน้ำส้มสายชู คือ เครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของน้ำส้มสายชู และแต่งกลิ่นให้มีกลิ่นของน้ำผลไม้ เช่นแอปเปิ้ล สตรอว์เบอรี่ เพื่อให้สามารถบริโภคได้ง่าย ในประเทศญี่ปุ่นเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากผลไม้ (fruit vinegar beverages) ได้ความนิยมมากในการบริโภค ซึ่งเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากผลไม้เป็นการเจือจางน้ำส้มสายชูที่หมักจากผลไม้ เช่น แอปเปิ้ล องุ่น หรือราสเบอร์รี่ โดยส่วนใหญ่เครื่องดื่มประเภทนี้จะได้รับความนิยมในสตรีที่มีอายุระหว่าง 20-30 ปี (http://web-japan.org/trends/lifestyle/lif050125.html)

2.4 ประโยชน์ทางการแพทย์ในการบริโภคน้ำส้มสายชูและกรดอะซิติค

หลายพันปีมาแล้วมีการนำน้ำส้มสายชูหรือกรดอะซิติคมารักษาและบรรเทาอาการเจ็บป่วย จากประโยชน์ทางการแพทย์ดังกล่าว ทำให้มีการทวนสอบเพื่อตรวจสอบความสามารถในการรักษาและบรรเทาอาการเจ็บป่วยของน้ำส้มสายชูหรือกรดอะซิติค ซึ่งการนำมาใช้นี้ยังมีการพบอัตราเสี่ยงและเกิดผลข้างเคียงได้ด้วย หากใช้อย่างไม่ถูกต้องและเหมาะสม ดังนั้นในรายงานการวิจัยนี้จึงนำเฉพาะประโยชน์ของน้ำส้มสายชูหรือกรดอะซิติคที่ได้มีการทวนสอบแล้ว และแสดงผลการทดลองให้เห็นได้อย่างชัดเจน ดังนี้

1. เป็นแหล่งอาหารที่มีสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและลดอัตราเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็ง (Nishino *et al.*, 2005) โดย Sugar cane vinegar (Kibizu) ทำให้เซลล์ลูคีเมียในมนุษย์ตายได้โดยวิธี Apoptosis (เป็นการตายชนิดหนึ่งที่รูปร่างเฉพาะที่และเกิดการแตกหักของสายดีเอ็นเอ) (Mimura *et al.*, 2004) และ Kurosu ซึ่งเป็นน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์ข้าวพื้นเมืองของประเทศญี่ปุ่น(Traditional Japanese rice vinegar) มีความสามารถในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งในมนุษย์ได้ (Nanda *et al.*, 2004) ซึ่งสารเอทิลอะซิเตดที่สกัดได้จาก Kurosu มีความสามารถในการยับยั้งสาร Azoxymethane ซึ่งเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งได้ 60% และสารก่อมะเร็งชนิดอื่นๆ 50% เมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์ทดลองควบคุมอื่นๆ (Shimoji *et al.*, 2004) อีกทั้งยังลดอัตราเสี่ยงการเกิดโรคมะเร็งทางเดินอาหาร (Esophageal cancer ; Xibib *et al.*, 2003) ซึ่งความสามารถในการลดอัตราเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งนี้ เกิดจากเมื่อได้มีการบริโภคน้ำส้มสายชูแล้ว กรดอะซิติคในน้ำส้มสายชูจะให้โปรตอนแก่กระเพาะอาหารเพื่อรวมตัวเป็นอะซิเตดอิออน (www.fda.gov) ซึ่งเป็นสารที่อาจจะต่อต้านการเกิดเนื้องอกได้

2. สามารถลดค่า Glycemic index (Glycemic index คือ ดัชนีน้ำตาล เป็นค่าที่บอกถึงอาหารคาร์โบไฮเดรตแต่ละชนิด ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นมากน้อยเท่าไร โดยเทียบกับน้ำตาลกลูโคสหรือขนมปังขาว ซึ่งใช้เป็นมาตรฐาน อาหารที่มีดัชนีน้ำตาลสูง จะทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นรวดเร็ว) (http://www.diabassocthai.org/patient/download/about_d2.pdf) ได้ในผู้บริโภคทั่วไปและผู้บริโภคที่ป่วยเป็นโรคเบาหวาน โดยน้ำส้มสายชูทำให้ปริมาณน้ำตาลในร่างกายลดลง (Ebihara and Nakajima, 1988) ซึ่งค่า Glycemic index ลดลง 30% ในอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต (Leeman *et al.*, 2005; Johnston *et al.*, 2004 ; Liljeberg and Bjorek, 1998) และค่า Glycemix index ในอาหารญี่ปุ่นที่มีส่วนผสมของน้ำส้มสายชูหรืออาหารที่มีส่วนผสมกับผลิตภัณฑ์ที่เป็นของดอง เช่น ซูชิ มีค่าลดลง (Sugiyama *et al.*, 2003) และได้มีการเปรียบเทียบการบริโภคแตงกวาที่ดองในน้ำส้มสายชูที่มีกรดอะซิติดอยู่ 1.6 กรัม กับแตงกวาสดร่วมกับขนมปัง เนยสด และโยเกิร์ต ค่า Glycemic index จากการบริโภคแตงกวาดองมีค่าลดลงมากกว่า 30% (Ostman *et al.*, 2001)

3. สามารถลดความดันโลหิตได้ จากศึกษาในหนูที่ได้รับสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของกรดอะซิติดจำนวน 0.86 มิลลิโมล/วัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ซึ่งความดันโลหิตลดลง 30-40% (Kondo *et al.*, 2001)

4. ความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจลดลง จากการศึกษากับผู้ป่วยในสถาบัน Nurses' Health Study ที่รับประทานน้ำสลัดที่มีส่วนผสมของน้ำมันและน้ำส้มสายชู 5-6 ครั้ง/สัปดาห์ มีความเสี่ยงในการเป็นโรคหัวใจลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่รับประทานน้ำสลัดได้น้อยกว่า 5-6 ครั้ง/สัปดาห์ (Hu *et al.*, 1999) อีกทั้งกรดอะซิติดยังมีส่วนช่วยดูดซึมและกักเก็บแคลเซียม ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่มีความจำเป็นต่อระบบความดันโลหิตของมนุษย์ (Trinidad *et al.*, 1996)

5. ความสามารถในการบริโภคอาหารลดลง เมื่อมีการบริโภคอาหารที่มีน้ำส้มสายชูเป็นส่วนผสม เนื่องจากน้ำส้มสายชูจะเพิ่มความรู้สึกอิ่มให้กับผู้บริโภค (Ostman *et al.*, 2005 ; Roberts, 2000)

จากรายงานประโยชน์ทางการแพทย์ของน้ำส้มสายชูและกรดอะซิติด แสดงให้เห็นว่าน้ำส้มสายชูหรือกรดอะซิติดมีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์เป็นอย่างมาก ซึ่งผู้บริโภคสามารถบริโภคได้ทุกวัน แต่เนื่องจากน้ำส้มสายชูมีกลิ่นฉุนรุนแรง และมีรสชาติเปรี้ยวบาดคอ ดังนั้นเพื่อให้เป็นการง่ายต่อการบริโภคจึงต้องมีการปรุงแต่งรสชาติให้เป็นที่พึงพอใจของผู้บริโภค

2.5 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (Free radicals) คือโมเลกุลหรืออิออนที่มีอิเลคตรอนโดดเดี่ยว อยู่รอบนอกและมีอายุสั้นมากประมาณ 1 หรือ 10^{-3}-10^{-10} วินาที จึงถูกจัดให้เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี สามารถตรวจวัดด้วย Electron Spin Resonance (ESR) โมเลกุลหรือ อิออนชนิดนี้เป็นตัวก่อให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ (utcc2.utcc.ac.th. - 5k)

เนื่องจากอนุมูลอิสระเป็นส่วนของโมเลกุลที่มีพลังงานสูง จึงชอบที่จะไปจับคู่ ซึ่งการจับคู่นี้ทำให้เกิดการทำลายอย่างมากมาย ตัวอย่างเช่น เมื่อหั่นแอปเปิ้ลเป็นชิ้น แล้วใส่จานทิ้งไว้บนโต๊ะโดยไม่มีอะไรปิดสักครู่ เนื้อแอปเปิ้ลก็จะกลายเป็นสีน้ำตาล หรือถ้าวางแท่นเหล็กไว้กลางฝนก็จะมีสนิมเกิดขึ้นเหล่านี้ เกิดจากการทำลายของอนุมูลอิสระนั้นเองที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อแอปเปิ้ลและทำให้เหล็กเป็นสนิมและอนุมูลอิสระยังทำอันตรายให้แก่ร่างกายของมนุษย์ได้อีก (www.manager.co.th. - 60k)

การเกิดอนุมูลอิสระ และ Reactive oxygen species (ROS) สามารถเกิดได้โดย

1. ปฏิกิริยาการแยกอย่างสมมาตร (symmetric separation)

$$X - X \text{ ------> } X^{\cdot} + X^{\cdot}$$

2. อนุมูลอิสระอื่นๆ

$$X^{\cdot} - HR \text{ ------> } HX + R^{\cdot}$$

โดยปกติอนุมูลอิสระจะเกิดขึ้นตลอดเวลาในร่างกายจากการหายใจ จากขบวนการเผาผลาญภายในร่างกายที่เรียกว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) จากความเครียดหรือจากสิ่งแวดล้อม เช่น ควันบุหรี่ ไอเสียของรถยนต์ โรงงานอุตสาหกรรม สารกันบูดในอาหาร จากยาบางชนิด และรังสีอุลตร้าไวโอเลตในแสงแดด ซึ่งสิ่งเหล่านี้สามารถกระตุ้นก่อให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นที่บริเวณผิวหนัง และทำปฏิกิริยาต่อเซลล์ข้างเคียง ทำให้เซลล์เสื่อมสภาพหรือตายเร็วกว่าปกติ จึงทำให้แก่ก่อนวัย ถ้ามีอนุมูลอิสระมากจะก่อให้เกิดโรคแห่งความเสื่อมของร่างกาย เช่น โรคหลอดเลือด โรคหัวใจ และต้อกระจกเป็นต้น ร่างกายจึงต้องหาทางป้องกัน การโดนทำลายจากอนุมูลอิสระเหล่านั้น สิ่งที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อปกป้องตัวเอง ก็คือระบบแอนติออกซิแดนซ์ (antioxidants) แต่มีอนุมูลอิสระบางชนิดที่ไม่เป็นอันตราย และเซลล์เม็ดเลือดขาวยังใช้อนุมูลอิสระเหล่านี้ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และเซลล์ มะเร็งได้อีกด้วย

ในบางภาวะที่ปริมาณอนุมูลอิสระมีมากเกินกว่าที่ระบบแอนติออกซิแดนซ์ในร่างกายสามารถจัดการได้ จะเกิดภาวะที่เรียกว่า Oxidative stress ขึ้น ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต

เช่น การทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และเกิดการทำลายของกลุ่มโมเลกุลที่มีพันธะ S-H และเยื่อหุ้มเซลล์ ก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์ และการทำลายเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุของการแก่ (Aging) และรุนแรงไปถึงการเกิดเป็นโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ เช่น เส้นเลือดตีบ โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (Autoimmune disease) โรคที่เกิดจากการที่เลือดกลับไปเลี้ยงอวัยวะที่เคยมีการตีบตันของเส้นเลือดในระยะสั้นๆมาก่อน (Reoxygenation injury, Reperfusion injury) รวมไปถึงโรคมะเร็งเป็นต้น (www.manager.co.th. - 60k)

2.6 สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนติออกซิแดนซ์ (Antioxidants)

สารต่อต้านอนุมูลอิสระ ประกอบด้วย สารหรือเอนไซม์ต่างๆ ที่มีความเข้มข้นต่ำ ซึ่งสามารถชะลอหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร (Substrate) ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา สารประกอบ (substrate) เหล่านี้คือ สารเกือบทุกชนิดในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ดีเอ็นเอ ร่างกายสามารถผลิตเอนไซม์บางชนิดซึ่งเป็นแอนติออกซิแดนซ์เอนไซม์ (antioxidant enzyme) เพื่อป้องกันอนุมูลอิสระได้ แต่การสร้างแอนติออกซิแดนซ์เอนไซม์นั้นไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ดังนั้นร่างกายจึงต้องการแอนติออกซิแดนซ์เพิ่มขึ้น ซึ่งได้แก่ วิตามินเอ เบต้าแคโรทีน วิตามินซี วิตามินอี ไบโอฟลาโวนอยด์ และเกลือแร่ เช่น ซีลีเนียม แมงกานีส ทองแดง สังกะสี และโมลิบดินัมอีกด้วย สารแอนติออกซิแดนซ์เหล่านี้จะทำลายอนุมูลอิสระโดยการจับกับอนุมูลอิสระ ลดการเกิดปฏิกิริยา ณ จุดตั้งต้นหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ (utcc2.utcc.ac.th. - 5k)

สารต่อต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติเป็นสารธรรมชาติที่มีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ซึ่งเกี่ยวข้องกับความสามารถในการให้ไฮโดรเจนของหมู่ OH^- ในสารประกอบฟีนอล ความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของสาร (Antioxidant activity, AOA) ขึ้นอยู่กับตำแหน่งและจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิล รวมทั้งโครงสร้างอื่นๆ ของโมเลกุล

สารประกอบหลักในพืชที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระคือ สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) ซึ่งเป็นสารพฤกษเคมีกลุ่มใหญ่ที่พบได้ในพืชทั่วไป โดยสารประกอบฟีนอลิกที่ทราบโครงสร้างแน่นอนจะมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ประพันธ์ และ วันทนีย์, 2545 ; Brovo, 1998) ส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชได้แก่ ฟลาวานอยด์ กรดฟีนอลิกและแอนโธไซยานิน พบทั่วไปในใบ ลำต้นและเปลือกของพืช กลไกในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกจะอยู่ในรูปของการกำจัดอนุมูลอิสระ การให้ไฮโดรเจนอะตอมและการกำจัดออกซิเจนที่ขาดอิเลคตรอน รวมทั้งการรวมตัวกับโลหะ (utcc2.utcc.ac.th. - 5k)

สารประกอบฟีนอลิกหรือสารประกอบโพลีฟีนอล (Polyphenols) ในปัจจุบันที่ทราบโครงสร้างแน่นอนแล้วมีมากกว่า 8,000 ชนิด ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่ายไปจนถึงโพลิเมอร์เชิงซ้อน ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกในตัวอย่างพืชนิยมรายงานเป็นค่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol contents) โดยใช้กรดแกลลิค (gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน (ประพันธ์, 2549)

กรดเฟอรูลิก (Ferulic acid) เป็นกรดฟีนอลิกชนิดหนึ่งที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Ou and Kwok, 2004) พบมากมายในพืช กรดเฟอรูลิกในธัญพืชมีสูง เช่น ในข้าวสาลีมีอยู่ 50-500 ไมโครกรัม/กรัมตัวอย่าง (Graf, 1992) โดยส่วนใหญ่กรดเฟอรูลิกจะถูกพบในรูปของเอสเทอร์ (ester forms) กับสารประกอบที่มีขั้ว (polar compounds) เช่นน้ำตาล (Saulnier and Thibault, 1999) หากเป็นสารประกอบไม่มีขั้ว (non-polar compounds) จะพบในรูปของสเตอรอยด์ (steroid) ในพืช (Nystrom *et al.*, 2005) ซึ่งรูปเอสเทอร์ในกรดเฟอรูลิก จะแสดงถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระในพืช (Masuda *et al.*, 2006)

2.7 รายงานการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มสายชู หรือผลิตภัณฑ์ที่คล้ายคลึงกัน

น้ำส้มสายชูเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่มีสารประกอบฟีนอลิกและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้พิจารณาจากข้อมูลของนักวิจัยต่างๆ ดังนี้

Nishidai *et al.* (2000) ได้ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ Kurosu vinegar ซึ่งเป็นน้ำส้มสายชูที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระคล้ายคลึงกับวิตามินอี (Alpha-tocopherol) และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าน้ำส้มสายชูชนิดอื่นๆ รวมทั้งไวน์ และ Apple vinegar โดยในกลุ่มผู้บริโภคที่มีภาวะไลโปโปรตีนต่ำ Kurozu จะช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระและปฏิกิริยาลูกโซ่ ซึ่งการบริโภค Kurozu เป็นประจำจะสามารถลดอัตราเสี่ยงการเกิดโรคหัวใจได้ (Yamaji *et al.*, 2001)

Andlauer *et al.* (2000) ศึกษาอิทธิพลของสารประกอบฟีนอลิกจากกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูจากไซเดอร์ ไวน์แดง และไวน์ขาว พบว่าในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู ปริมาณฟีนอลทั้งหมดลดลง ซึ่งลดลง 40%, 13% และ 8% ตามลำดับ ซึ่งคุณสมบัติทางเคมีของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก วิธีการหมัก ล้วนแต่มีผลต่อค่าต่างๆ เช่น ปริมาณกลีเซอรอล กรดอินทรีย์ สารประกอบฟีนอลิก ซึ่งค่าต่างๆ เหล่านี้ล้วนแต่มีผลต่อคุณภาพน้ำส้มสายชู (Morales *et al.*, 2001) และเมื่อ

ทดลองเร่งระยะเวลาในการบ่ม wine vinegar โดยการใส่เศษไม้โอ๊ค ปริมาณโพลีฟีนอลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลังจากบ่มได้ 15 วัน แสดงให้เห็นว่าเศษไม้โอ๊คมีผลต่อปริมาณโพลีฟีนอล ซึ่งปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นอย่างน้อย 1% สามารถผลิตเอทิลอะซิเตดเข้มข้นสูงได้ อีกทั้งผู้บริโภคสามารถแยกความแตกต่างจากการทดสอบทางประสาทสัมผัส wine vinegar เมื่อบ่มได้ 90 วัน จากไวน์เริ่มต้นที่มีปริมาณแอลกอฮอล์แตกต่างกัน (P<0.1 ; Tesfaye *et al.*, 2004)

Nishiyama *et al.* (2003) ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระใน wood vinegar โดยใช้ drift wood (เศษไม้, ซากไม้) เป็นวัตถุดิบแทนการใช้ไม้จากป่าไม้ และ smoke flavor ซึ่ง wood vinegar และ smoke flavor มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

Yoshimoto *et al.* (2004) ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของโชยุที่ผลิตจากเศษข้าวโพดฝักผสมกับโคจิ (*Aspergillus awamori* mut.) และเซลลูเลส (Cellulosin T2) เพื่อพัฒนาวิธีการใช้ที่เหมาะสม โดยใช้โคจิและเซลลูเลสผสมกับส่วนเหลือของข้าวโพดฝัก ข้าว และข้าวบาร์เล่ย์ พบว่าโคจิและเซลลูเลสที่ผสมกับข้าวโพดฝักมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น เนื่องจากตรวจพบปริมาณกรดคาเฟอิก (Caffeic acid) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่ตรวจพบได้ในโชยุที่ผลิตจากข้าวโพดฝักเท่านั้น และในข้าวโพดฝักซึ่งเป็นวัตถุดิบตรวจไม่พบกรดคาเฟอิกเช่นกัน ซึ่งโชยุมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระมากกว่าน้ำส้มสายชูที่มีอยู่ทั่วไปในท้องตลาด

Dávalos *et al.* (2005) ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำองุ่นในท้องตลาดทั่วไปและน้ำส้มสายชู โดยตรวจวัดค่า ORAC จากตัวอย่างน้ำองุ่นแดง น้ำองุ่นขาว และน้ำส้มสายชูจากไวน์ ชนิดละ 5 ตัวอย่าง ซึ่งค่า ORAC-FL ที่ได้มีดังนี้ 14.6-25.0, 3.5-11.1 และ 4.5-11.5 μmol of trolox equivalents ml. ตามลำดับ ซึ่งความแตกต่างของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกันที่ปริมาณฟีนอลิก และสารประกอบอื่นๆ จากข้อมูลนี้สรุปได้ว่าน้ำองุ่นทั้งสองชนิด และน้ำส้มสายชูจากไวน์เป็นแหล่งอาหารที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลิกนั้นมีความสัมพันธ์กัน

Alonso *et al* (2004) ได้วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากปริมาณโพลีฟีนอลและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีต่างๆ ในผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชู บรั่นดีที่หมักในถังไม้ พบว่าถังไม้ที่ใช้ในการหมักบรั่นดีมีความสำคัญกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย และมีการเปรียบเทียบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิก และปริมาณฟลาโวนอยด์ใน Tradition balsamic vinegar ซึ่งเป็นน้ำส้มสายชูที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ กับไวน์แดง Nero d' Avola และไวน์อื่นๆ อีก 2 ชนิด ซึ่ง Tradition balsamic vinegar มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าไวน์แดง Nero d' Avola เท่านั้น (Verzelloni *et al.*, 2006)

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1.1 วัตถุดิบ

ข้าวโพดฝักอ่อน ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานแอกโกร- ออน (ไทยแลนด์) จำกัด จังหวัดสุพรรณบุรี

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดข้าวโพดฝักอ่อน

ชื่อสารเคมี	บริษัท/ประเทศที่ผลิต
Ethanol 95%	LABSCAN, ประเทศไทย

3.1.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (Total polyphenol contents) (Singleton and Rossi, 1965)

ชื่อสารเคมี	บริษัท/ประเทศที่ผลิต
Ethanol 95%	LABSCAN, ประเทศไทย
Folin-Ciocalteau	CARLO, Italy
Gallic acid	FLUKA, Switzerland
Sodium carbonate (Na_2CO_3)	MERCK, German

3.1.2.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Free radical scavenging capacity) (Brand – Williams *et al.*, 1995)

ชื่อสารเคมี	บริษัท/ประเทศที่ผลิต
Ethanol 95%	LABSCAN, ประเทศไทย
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	SIGMA CHEMICAL, USA
DL-α-tocopherol	SIGMA CHEMICAL, USA

3.1.2.4 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรด (AOAC, 1995)

ชื่อสารเคมี	บริษัท/ประเทศที่ผลิต
Sodiumhydroxide (NaOH)	CARLO, Italy

(ชนิดรีเอเจนต์กรด มี Na_2CO_3 น้อยกว่า 5% หรือ A.R. grade)

Potassiumhydrogenphathalate ($KHC_8H_4O_4$)	MERCK, German
Phenolphthalein	MERCK, German

3.1.2.5 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Lane and Eynon (Plew, 1970)

ชื่อสารเคมี	บริษัท/ประเทศที่ผลิต
$CuSO_4$	CARLO, Italy
Potassium sodium tartrate	MERCK, German
Sodiumhydroxide (NaOH)	CARLO, Italy
Methylene blue	MERCK, German
Phenolphthalein	MERCK, German
Conc. HCl	LABSCAN, ประเทศไทย
KOH	CARLO, Italy
Acetic acid (CH_3COOH)	LABSCAN, ประเทศไทย

3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมืออุปกรณ์

3.1.3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการสกัดข้าวโพดฝักอ่อน

ชื่อเครื่องมือ	รุ่น	บริษัท/ประเทศที่ผลิต
อุปกรณ์เครื่องแก้ว	Pyrex	German
เครื่องปั่น	HR 1791	Philippine
เครื่องเขย่า		ประเทศไทย
เครื่องหมุนเหวี่ยงตะกอน	CN-1040	SHIANGTAI

3.1.3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

ชื่อเครื่องมือ	รุ่น	บริษัท/ประเทศที่ผลิต
อุปกรณ์เครื่องแก้ว	Pyrex	German
เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (US-VIS spectrophotometer)		SHIMADZU, Japan

3.1.3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรด

ชื่อเครื่องมือ	รุ่น	บริษัท/ประเทศที่ผลิต
อุปกรณ์เครื่องแก้ว	Pyrex	German

3.1.3.4 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณปริมาณน้ำตาลละลายได้

ชื่อเครื่องมือ	รุ่น	บริษัท/ประเทศที่ผลิต
Hand refractometer	N-1E	ATAGO, Japan

3.1.3.5 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่า pH

ชื่อเครื่องมือ	รุ่น	บริษัท/ประเทศที่ผลิต
อุปกรณ์เครื่องแก้ว	Pyrex	German
pH Meter	CD 840	SCHOTT, Germany

3.1.3.6 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเปอร์เซนต์แอลกอฮอล์

ชื่อเครื่องมือ	รุ่น	บริษัท/ประเทศที่ผลิต
อุปกรณ์เครื่องแก้ว	Pyrex	German
อัลบูลิโอมิเตอร์ (Ebuliometer)	94117	ARCUEUEIL, France

3.1.4 สถานที่ดำเนินงาน

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ห้องปฏิบัติการเคมี บริษัท ไทยสพิริทอินดัสตรี จำกัด

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

3.2 วิธีการดำเนินงาน

3.2.1 การศึกษากิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษากิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูแบ่งวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

3.2.1.1 ศึกษาคุณสมบัติทางเคมี

ปริมาณกรดทั้งหมดตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ค

ค่า pH ตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ง

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก จ

ปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยอัลบูลิโอมิเตอร์ตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ฉ

ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ (องศาบริกซ์) ตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ช

3.2.1.2 ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระตามวิธีการวิเคราะห์ในภาค ผนวก ก

ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดตามวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ข

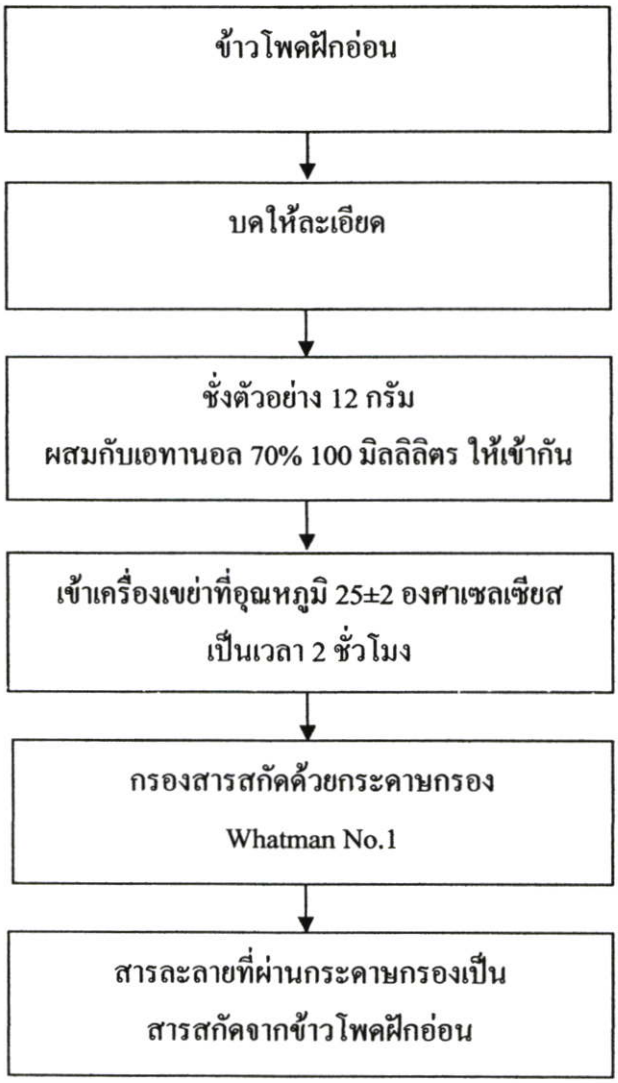
3.2.2 การศึกษากิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระ

เก็บตัวอย่างเพื่อการศึกษากิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูแบ่งออกเป็น 2 ส่วนดังนี้

3.2.2.1. ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากข้าวโพดฝักอ่อน

ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระตามข้อ 3.2.1.2 จากสารสกัดจากข้าวโพดฝักอ่อน ซึ่งเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากข้าวโพดฝักอ่อนดังภาพที่ 3.1

81341

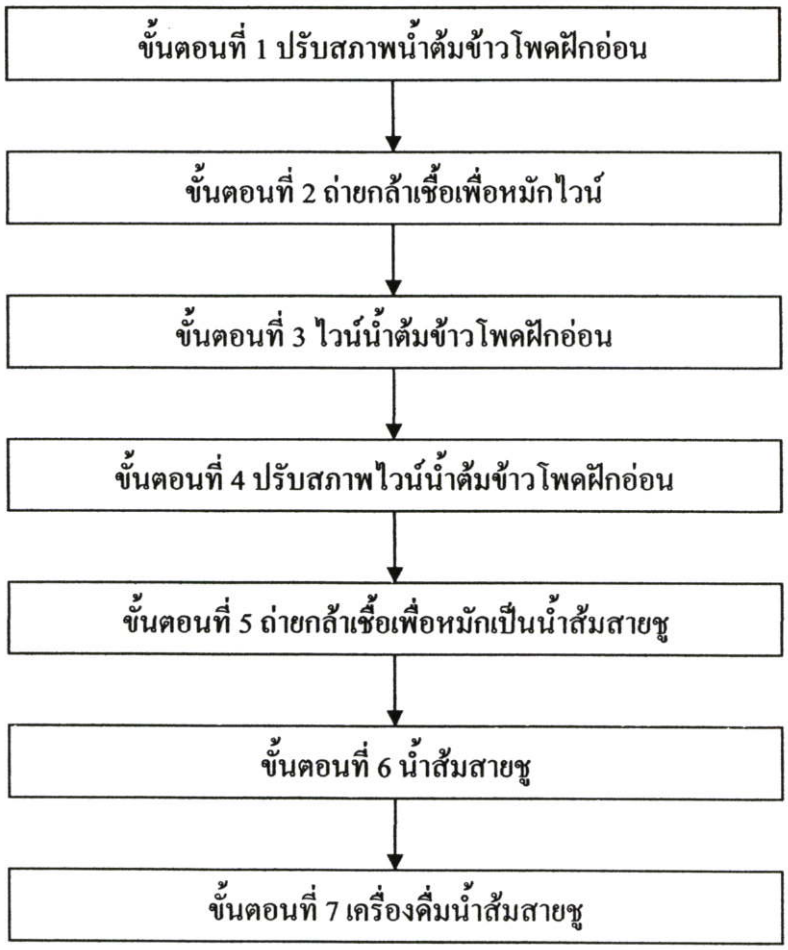


ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการสกัดข้าวโพดฝักอ่อน

ที่มา : ดัดแปลงจาก United States Patent 6326504 ; European Patent EP1388343

3.2.2.1. ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในขั้นตอนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู

ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากขั้นตอนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน ดังภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการหมักน้ำส้มสายจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

การศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

ขั้นตอนที่ 1 ปรับสภาพน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

เป็นการปรับสภาพน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนเพื่อให้เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักไวน์ โดยการเติมน้ำตาลลงในน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนซึ่งมีค่าองศาบริกซ์เริ่มต้นประมาณ 2.0 จนกระทั่งวัดด้วยเครื่องรีแฟคโตมิเตอร์ให้ได้ค่าองศาบริกซ์ประมาณ 15-16 (เพื่อให้ได้ไวน์ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 8%) เติมแอมโมเนียมซัลเฟต แมกนีเซียมฟอสเฟต และโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตในปริมาณ 0.05, 0.02 และ 0.8% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ตามลำดับ และปรับค่า pH เป็น 4.5 ด้วย 10% กรดซิตริก (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในขั้นตอนที่ 1 ให้วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีตามข้อที่ 3.2.1.1 และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระตามข้อที่ 3.2.1.2

ขั้นตอนที่ 2 การถ่ายกล้าเชื้อเพื่อหมักไวน์

การเตรียมกล้าเชื้อเพื่อหมักไวน์เป็นการเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ (Starter) *Saccharomyces cerevisiae* M30 โดยบรรจุอาหาร MY Broth 100 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร และนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากที่อาหาร MY Broth เย็นแล้ว ให้ถ่ายเชื้อ *S. cerevisiae* M30 ที่เลี้ยงบน MY Agar slant ลงไป และนำไปเข้าเครื่องเขย่าที่มีความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นให้นำ Starter ที่ได้มาเติมลงในน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ปรับสภาพแล้ว โดยการเติมปริมาณ Starter 5% ของน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ปรับสภาพแล้ว ในขั้นตอนที่ 2 นี้ไม่มีการเก็บตัวอย่าง เนื่องจากเป็นขั้นตอนที่ต่อเนื่องกับขั้นตอนที่ 3

ขั้นตอนที่ 3 ไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

หลังจากเติม Starter 5% ลงในน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ปรับสภาพแล้ว ให้ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยจนกระทั่งการหมักสิ้นสุดในชั่วโมงที่ 176 ซึ่งมีปริมาณแอลกอฮอล์ 8% ซึ่งในขั้นตอนที่ 3 ให้เก็บตัวอย่างน้ำหมักจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนในชั่วโมงที่ 0, 18, 32, 56, 80, 104, 152 และ 176 วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีตามข้อที่ 3.2.1.1 และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระตามข้อที่ 3.2.1.2

ขั้นตอนที่ 4 ปรับสภาพไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

เป็นการปรับสภาพไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนเพื่อมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักน้ำส้มสายชู ในขั้นตอนที่ 4 นี้ไม่มีการเก็บตัวอย่าง เนื่องจากเป็นขั้นตอนที่ต่อเนื่องกับขั้นตอนที่ 5

ขั้นตอนที่ 5 ถ่ายกล้าเชื้อเพื่อหมักเป็นน้ำส้มสายชู

เป็นการเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรีย (Starter) โดยบรรจุอาหาร GYE Broth 100 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ถ่ายเชื้อ *Acetobacter* aceti WK ที่เลี้ยงบน GYE Agar slant ลงไป แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่าที่มีความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมาเติมในไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ปรับสภาพเพื่อหมักต่อน้ำส้มสายชู ซึ่งไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ใช้ในการหมักเป็นน้ำส้มสายชูต้องมีปริมาณแอลกอฮอล์ 8% ให้เติมกรดอะซิติคเข้มข้น 1% แอมโมเนียมซัลเฟต 0.3% และบรรจุในถังหมักที่มีการให้อากาศอย่างต่อเนื่อง บริเวณด้านล่างของถังมีวัสดุยึดเกาะ คือ ใยพลาสติก โดยให้เติม Starter 7.5% ของน้ำไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ปรับสภาพแล้ว ในขั้นตอนที่ 5 นี้ไม่มีการเก็บตัวอย่าง เนื่องจากเป็นขั้นตอนที่ต่อเนื่องกับขั้นตอนที่ 6

ขั้นตอนที่ 6 น้ำส้มสายชู

หลังจากเติม Starter 7.5% ลงในไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ปรับสภาพแล้ว ให้ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยจนกระทั่งการหมักสิ้นสุดในชั่วโมงที่ 92 จนได้น้ำส้มสายชูปริมาณกรดประมาณ 4% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ซึ่งในขั้นตอนที่ 6 ให้เก็บตัวอย่างน้ำหมักจากน้ำส้มสายชูในชั่วโมงที่ 0, 19, 43, 67, และ 92 วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีตามข้อที่ 3.2.1.1 และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระตามข้อที่ 3.2.1.2

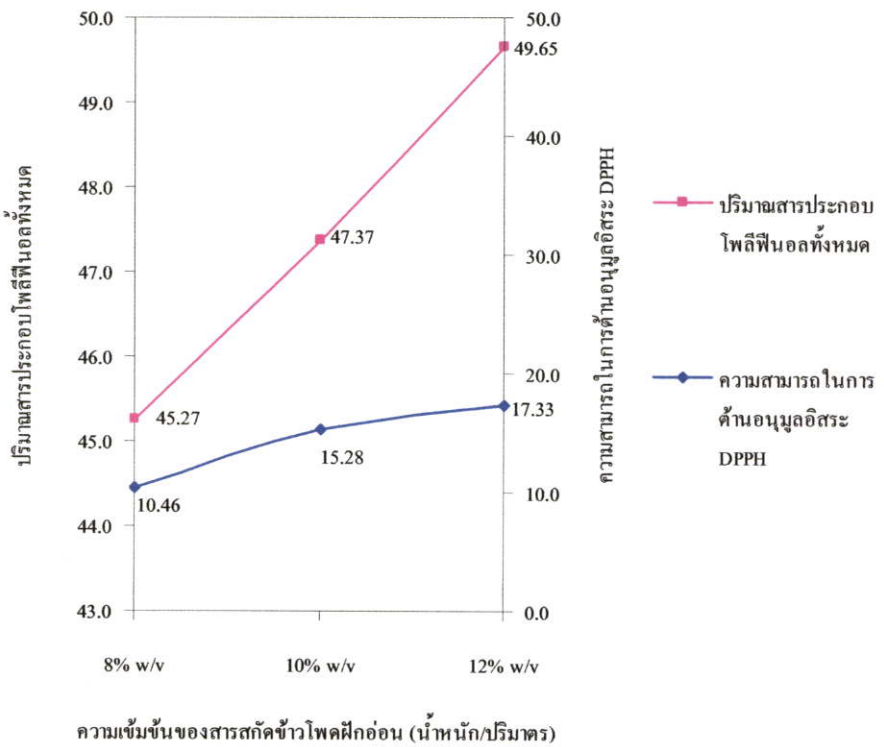
ขั้นตอนที่ 7 เครื่องดื่มน้ำส้มสายชู

เมื่อได้น้ำส้มสายชูที่มีปริมาณกรดประมาณ 4% ให้นำน้ำส้มสายชูที่ได้มาปรุงแต่งรสชาติเป็นเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู ในขั้นตอนที่ 7 ให้วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีตามข้อที่ 3.2.1.1 และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระตามข้อที่ 3.2.1.2

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากข้าวโพดฝักอ่อน

ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อนที่มีความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ กัน แสดงดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อนที่ 8%, 10% และ 12% (น้ำหนัก/ปริมาตร)

จากภาพที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่า เมื่อปริมาณข้าวโพดฝักอ่อนที่สกัดด้วยเอทานอล 70% เพิ่มขึ้น ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มเพิ่มตามปริมาณน้ำหนักของข้าวโพดฝักอ่อนที่นำมาสกัด

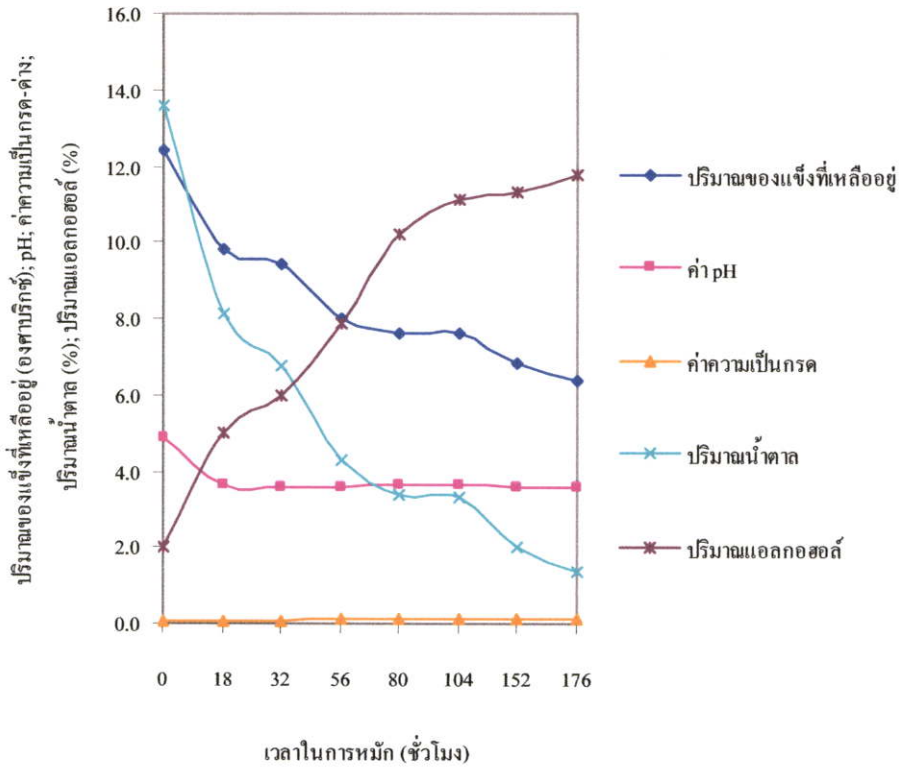
จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อน นำมาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.44±0.02 กรัม/100 กรัมตัวอย่างสด และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เฉลี่ยเท่ากับ 30.81±0.25% ซึ่ง

การศึกษาของ Roy *et al.* (2006) พบว่าในข้าวโพดฝักอ่อนมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 0.35 กรัม/100 กรัมตัวอย่าง

4.2 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมี และศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระระหว่างการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

4.2.1 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีระหว่างการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

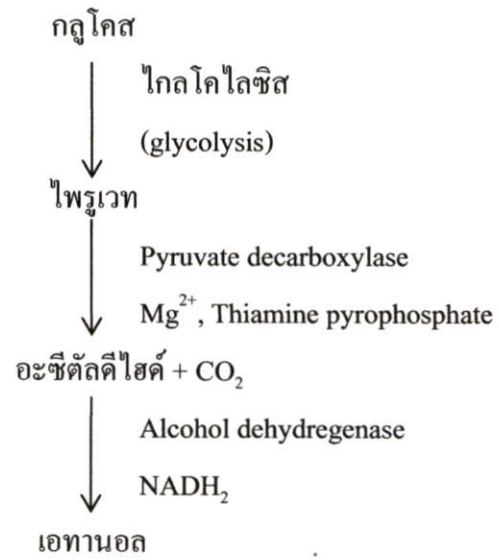
ผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีระหว่างการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน แสดงดังภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 คุณสมบัติทางเคมีระหว่างการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

จากภาพที่ 4.2 ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวโพดฝักอ่อนระหว่าง 0 ถึง 176 ชั่วโมงพบว่าปริมาณของแข็งที่เหลืออยู่ (องศาบริกซ์) มีแนวโน้มลดลงจาก 12.4 องศาบริกซ์ เป็น 6.4 องศาบริกซ์ ค่า pH มีแนวโน้มลดลงจาก 4.89 เป็น 3.58 ค่าความเป็นกรด (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจาก 0.069 เป็น 0.105 ขณะที่ปริมาณน้ำตาลมีแนวโน้มลดลงจาก 13.6% เป็น 1.3% และปริมาณแอลกอฮอล์เมื่อการหมักสิ้นสุดมีค่าเท่ากับ 11.7%

ในกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์ด้วยยีสต์ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เป็นสภาวะที่ยีสต์สามารถเจริญได้ช้ากว่าในสภาพที่มีออกซิเจน ด้วยปฏิกิริยาไกลโคไลซิส (Glycolytic pathway) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนกลูโคส (C_6) มาเป็นกรดไพรูวิค (Pyruvic acid) หรือไพรูเวท (C_3) และไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนเป็นอะซีตัลดีไฮด์ (Acetaldehyde) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ด้วยเอนไซม์ Pyruvate decarboxylase หลังจากนั้นอะซีตัลดีไฮด์จะถูกรีดักชันด้วยเอนไซม์ Alcohol dehydrogenase ซึ่งการที่ยีสต์เกิดปฏิกิริยา decarboxylation ทำให้ได้เอทานอล 2 โมล จากกลูโคส 1 โมล (Weimer, 1991) ดังภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 การสังเคราะห์เอทานอล

ที่มา : ดัดแปลงจาก Crueger and Crueger (1990)

สามารถสรุปเป็นสมการได้ดังนี้

$$\underset{\text{กลูโคส}}{C_2H_{12}O_6} \longrightarrow \underset{\text{เอทานอล}}{2C_2H_5OH} + 2CO_2$$

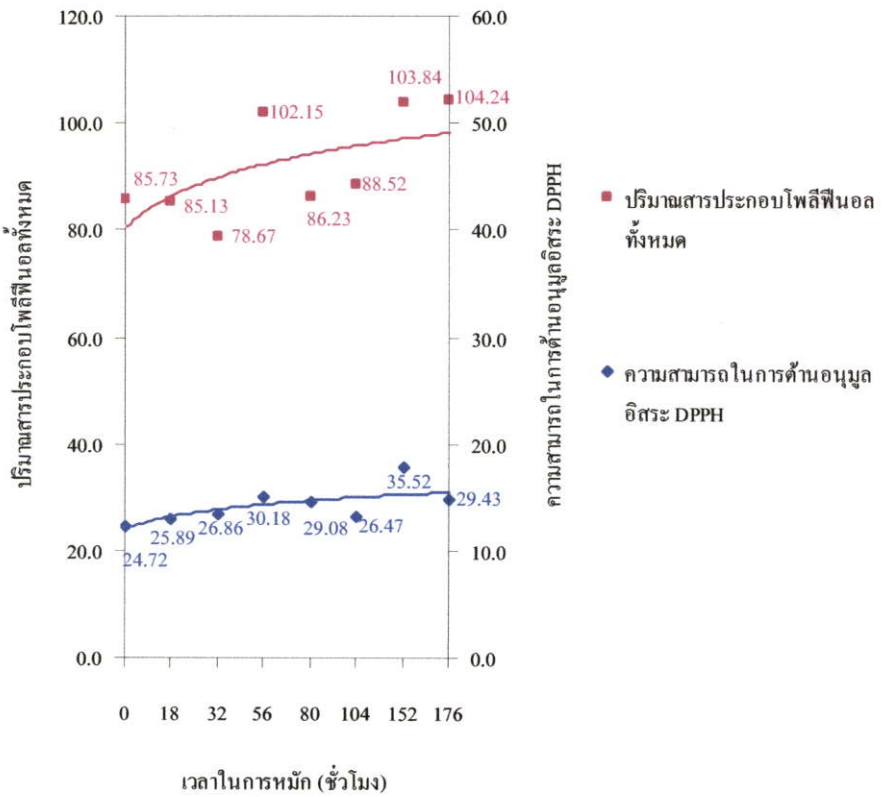
ในขณะที่เกิดเอทานอลขึ้น จะเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับ โดยเอทานอลจะถูกรีดักชันด้วย Yeast alcohol dehydrogenase (YADH) กลับมาเป็นอะซีตัลดีไฮด์และไฮโดรเจนอะตอม สามารถสรุปปฏิกิริยาได้ดังนี้

$$\underset{\text{เอทานอล}}{C_2H_5OH} + NAD^+ \xleftrightarrow{YADH} \underset{\text{อะซีตัลดีไฮด์}}{C_2H_4O} + NADH + H^+$$

ดังนั้นในการเกิดเอทานอลทุกครั้งก็จะเกิดไฮโดรเจนอะตอมด้วยทุกครั้ง ซึ่งเมื่อเปอร์เซ็นต์เอทานอลเพิ่มขึ้น ค่าความเป็นกรดจึงเพิ่มขึ้นตามด้วย เป็นผลให้ค่า pH มีค่าลดลง

4.2.2 ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระระหว่างการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

ผลการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระระหว่างการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน แสดงดังภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 เปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในระหว่างการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

จากภาพที่ 4.4 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนชั่วโมงที่ 0 ถึง 176 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจาก 85.74±1.58 มิลลิกรัม/ลิตร สมมูลย์กรดแกลลิค เป็น 104.24±1.06 มิลลิกรัม/ลิตร สมมูลย์กรดแกลลิค และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจาก 24.72±0.44% เป็น 29.43±2.52%

การเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ได้เนื่องจากเอทานอลที่ได้จากกระบวนการหมักจะถูกใช้เป็นสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากฝักและเนื้อของข้าวโพดฝักอ่อนที่มีอยู่ในไวน์เอง ยิ่งระยะเวลาการหมักยาวนานขึ้น

ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักจะมีค่าสูงขึ้น เป็นผลให้ความสามารถในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น ดังนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีในไวน์จึงเพิ่มขึ้นเช่นกัน ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกที่ได้นั้นมีผลต่อกลิ่นรสของไวน์ โดยสารประกอบฟีนอลิกที่พบในไวน์ที่มีอายุการหมักน้อยจะมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำถึงปานกลาง และสารประกอบฟีนอลิกในไวน์ที่มีอายุการหมักนานจะมีน้ำหนักโมเลกุลสูง (Shahidi and Naczk, 2004)

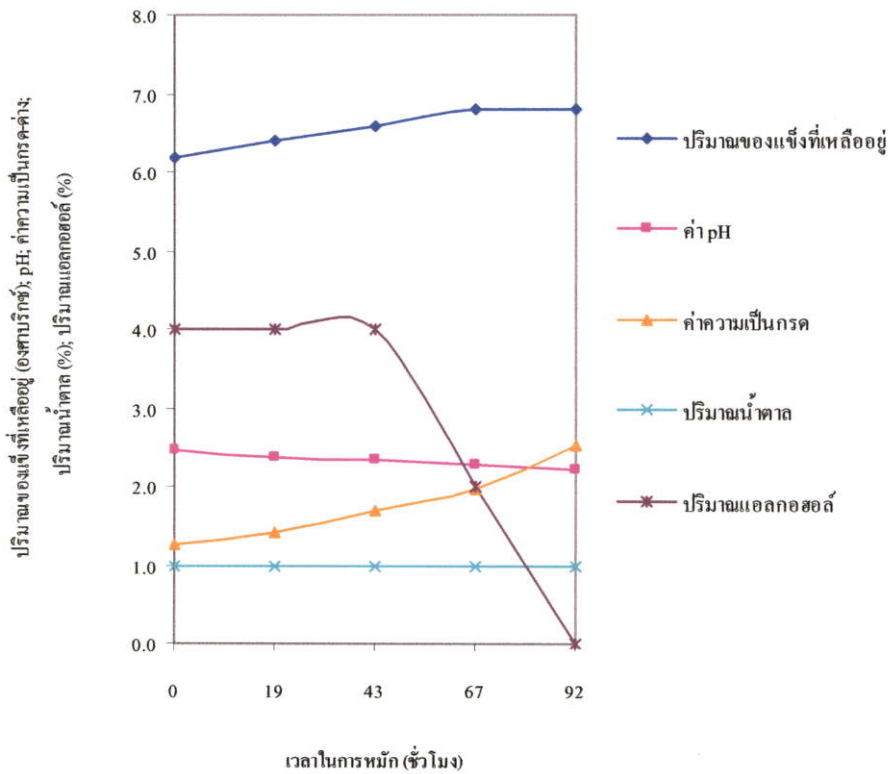
ในขณะที่ Singleton and Noble (1976) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่พบในไวน์ได้จากกระบวนการที่ยีสต์เปลี่ยนอาหาร (Substance) ทั้งที่ไม่เป็นสารประกอบฟีนอลิก (Nonphenolic substances) สารสกัดของฟีนอลิก (Phenolic extract) และสารละลายน้ำตาลมาเป็นเอทานอล ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จะขึ้นอยู่กับระยะเวลาการหมัก ดังนั้นจากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สามารถแสดงความสัมพันธ์ร่วมกับปริมาณแอลกอฮอล์ ระหว่างการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนได้ดังภาพที่ 4.4

เมื่อปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการหมัก สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามด้วยเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Brandolini *et al.* (2007) ที่พบว่าโดยส่วนใหญ่เมื่อระยะเวลาการหมักไวน์เพิ่มขึ้นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นตามด้วย ซึ่งการศึกษาของ Bosanek *et al.* (1996) พบว่าสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดใน Red Grape Juice มีค่าเท่ากับ 1,407-2,246 มิลลิกรัม/ลิตรสมมูลย์กรดแกลลิค และเมื่อผ่านกระบวนการหมักเป็น Red wine แล้วมีค่าเท่ากับ 3,630 มิลลิกรัม/ลิตรสมมูลย์กรดแกลลิค แสดงให้เห็นว่าเมื่อน้ำผลไม้ผ่านกระบวนการหมักแล้ว ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเพิ่มขึ้น

4.3 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

4.3.1 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวโพดฝักอ่อน

ผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน แสดงดังภาพที่ 4.5



ภาพที่ 4.5 คุณสมบัติทางเคมีระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

เมื่อปรับสภาพไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนให้เหมาะสมกับการหมักน้ำส้มสายชูแล้ว ในระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึง 92 (ดังภาพที่ 4.6) พบว่าปริมาณของแข็งที่เหลืออยู่ (องศาบริกซ์) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจาก 6.2 องศาบริกซ์ เป็น 6.8 องศาบริกซ์ ค่า pH มีแนวโน้มลดลงจาก 2.45 เป็น 2.21 ค่าความเป็นกรด (น้ำหนัก/ปริมาตร) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจาก 1.271 เป็น 2.521 ขณะที่ปริมาณน้ำตาล (%) ในระหว่างกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูมีค่าน้อยกว่า 1.0 และปริมาณแอลกอฮอล์ (%) ลดลงจาก 4% จนไม่มีปริมาณแอลกอฮอล์เหลืออยู่เลย

จากผลการวิเคราะห์สามารถอธิบายกระบวนการหมักเอทานอลเพื่อให้ได้กรดอะซิติค โดยมีปฏิกิริยา 2 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ขั้นตอนที่สองเป็นปฏิกิริยาการออกซิไดซ์เอทานอลให้เป็นกรดอะซิติกโดยการทำงานของเชื้อแบคทีเรียภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ซึ่งผลการทดลองในที่

ข้อ 4.2 ได้อธิบายขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนไว้แล้ว ส่วนขั้นตอนการออกซิไดซ์เอทานอลให้เป็นกรดอะซิติกโดยการทำงานของเชื้อแบคทีเรียภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนสามารถสรุปเป็นปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน (วราวุฒิ และ รุ่งนภา, 2532) ได้ดังนี้

ขั้นตอนแรกเป็นการเปลี่ยนเอทานอลให้เป็นอะซีตัลดีไฮด์ โดยอาศัยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาดังสมการต่อไปนี้

$$CH_3CH_2OH + O \xrightarrow[\text{dehydrogenase}]{\text{alcohol}} CH_3CHO + H_2O$$

เอทานอล อะซีตัลดีไฮด์

ขั้นตอนที่สองเป็นการเปลี่ยนอะซีตัลดีไฮด์ให้เป็นไฮเดรตอะซีตัลดีไฮด์ (hydrated acetaldehyde) โดยอาศัยเอนไซม์อะซีตัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส (acetaldehyde dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาดังสมการต่อไปนี้

$$CH_3CHO + H_2O \longrightarrow CH_3\text{-}C(H)(OH)(OH)$$

ขั้นตอนที่สาม เป็นขั้นตอนการสร้างกรดอะซิติค โดยที่เกิดปฏิกิริยาการส่งโปรตอน 2 ตัวของไฮเดรตอะซีตัลดีไฮด์ไปยังอะตอมของออกซิเจนจนเกิดกรดอะซิติคออกมา ทั้งนี้โดยอาศัยเอนไซม์อะซีตัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส ดังสมการ

$$CH_3\text{-}C(H)(OH)(OH) + O_2 \xrightarrow[\text{dehydrogenase}]{\text{alcetaldehyde}} CH_3COOH + H_2O$$

ซึ่งสามารถสรุปปฏิกิริยาการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติคได้ดังนี้

$$C_2H_5OH + O_2 \xrightarrow{\textit{Acetobacter}\ \text{sp.}} CH_3COOH + H_2O$$

เอทานอล ออกซิเจน กรดอะซิติค

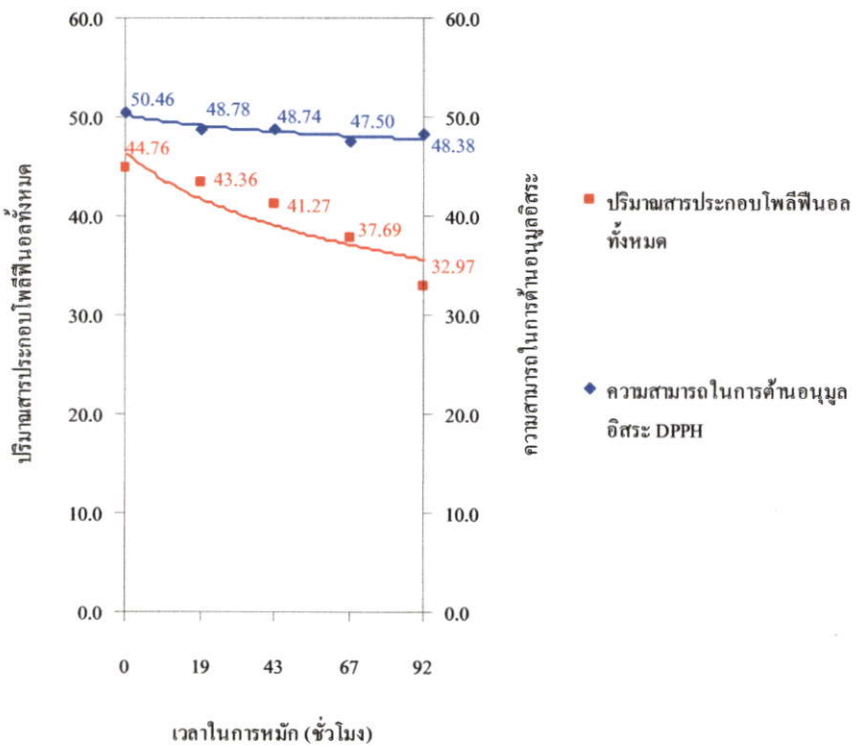
นอกจากนี้การเกิดกรดอะซิติคอาจเกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยอะซีตัลดีไฮด์ 2 โมเลกุลจะทำปฏิกิริยากัน โดยเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Cannizaro dismutation reaction ทำให้ได้กรดอะซิติกและเอทานอลอย่างละ 1 โมเลกุล (Ghose และ Bhadra, 1985) ดังสมการต่อไปนี้

$$2CH_3CHO + H_2O \longrightarrow C_2H_5OH + CH_3COOH$$

อะซีตัลดีไฮด์ เอทานอล กรดอะซิติค

4.3.2 การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

ผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน แสดงดังภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 เปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

จากภาพที่ 4.6 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างน้ำส้มสายชูตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึง 92 มีแนวโน้มลดลงจาก 44.76±0.86 มิลลิกรัม/ลิตร สมมูลย์กรดแกลลิค เป็น 32.97±0.99 มิลลิกรัม/ลิตรสมมูลย์กรดแกลลิค และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มลดลงจาก 50.46±0.30 % เป็น 48.80±1.25 % ด้วยเช่นกัน

เนื่องจากในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูเป็นกระบวนการหมักที่ต้องมีการให้อากาศอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นการลดลงของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถใน

การต้านอนุมูลอิสระ DPPH จึงเกิดจากการที่สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดถูกออกซิไดซ์ด้วยออกซิเจน

ดังนั้นเมื่อระยะเวลาการหมักน้ำส้มสายชูเพิ่มขึ้น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจึงลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Min-Sheng and Juan (2006) ที่พบว่าในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงด้วย และไวน์, Cider, Red wine และ White wine ที่ผ่านกระบวนการหมักเป็นน้ำส้มสายชูแล้ว (Cider vinegar, Red wine vinegar และ White wine vinegar) ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมีค่าลดลง (Andlauer *et al.*, 2000) และเมื่อมีการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟลาโวนอยด์ใน Red wine (Nero d' Avola) พบว่าค่าทั้งหมดสูงกว่า Tradition balsamic vinegar (Verzelloni *et al.*, 2006) แต่การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในกระบวนการหมัก Sherry wine vinegar ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Morales *et al.*, 2001)

4.4 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู

ผลการการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลการการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู

การวิเคราะห์	ผลการวิเคราะห์
ปริมาณของแข็งที่เหลืออยู่ (องศาบริกซ์)	4.0
ค่า pH	5.2
ค่าความเป็นกรด (น้ำหนัก/ปริมาตร)	0.45
ปริมาณน้ำตาล (%)	5.0
ปริมาณแอลกอฮอล์ (%)	0
ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัม/ลิตร สมมูลย์กรดแกลลิค)	32.27±1.13
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (%)	25.54 ±1.45

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในสารสกัดจากข้าวโพดฝักอ่อนที่ความเข้มข้น 8%, 10% และ 12% น้ำหนัก/ปริมาตร พบว่ามีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.44±0.02 กรัม/100 กรัมตัวอย่าง

เมื่อเตรียมน้ำหมักจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนเพื่อหมักเป็นไวน์ พบว่าปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนชั่วโมงที่ 0 ถึง 176 มีค่าเท่ากับ 85.74±1.58 มิลลิกรัม/ลิตร สมมูลย์กรดแกลลิค และ 104.24±1.06 มิลลิกรัม/ลิตร สมมูลย์กรดแกลลิค ตามลำดับ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนชั่วโมงที่ 0 ถึง 176 มีค่าเท่ากับ 24.27±0.44 % และ 29.43±2.52 % ตามลำดับ ดังนั้นปริมาณการเกิดสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก การที่สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นนั้น ขึ้นอยู่กับปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก ซึ่งเอทานอลที่ได้จะถูกใช้เป็นสารสกัดปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดที่มีอยู่ในไวน์ และเมื่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเพิ่มขึ้นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH จึงเพิ่มขึ้นตามด้วย

หลังจากนั้นนำไวน์ในชั่วโมงที่ 176 มาผ่านกระบวนการปรับสภาพให้เหมาะสมเพื่อผ่านขั้นตอนการหมักให้ได้เป็นน้ำส้มสายชู ซึ่งปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูชั่วโมงที่ 0 ถึง 92 มีค่าเท่ากับ 44.76±0.86 มิลลิกรัม/ลิตร สมมูลย์กรดแกลลิค และ 32.97±0.99 มิลลิกรัม/ลิตร สมมูลย์กรดแกลลิค ตามลำดับ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ชั่วโมงที่ 0 ถึง 92 มีค่าเท่ากับ 50.46±0.30 % และ 48.80±1.25 % ตามลำดับ ดังนั้นปริมาณการเกิดสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวโพดฝักอ่อนมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาการหมัก ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดจึงขึ้นอยู่กับปริมาณอากาศที่ได้รับในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชู เนื่องจากสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดถูกออกซิไดซ์ด้วยออกซิเจน จึงเป็นผลให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าลดลง

เมื่อนำน้ำส้มสายชูชั่วโมงที่ 92 มาปรุงเป็นเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู (Vinegar drink) ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 32.27±1.13 มิลลิกรัม/ลิตร สมมูลย์กรดแกลลิค และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าเท่ากับ 8.80±1.45 % ในขั้นตอนการปรุงเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าลดลงจากไวน์และน้ำส้มสายชู เนื่องจากการปรุงแต่งเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูเป็นการเจือจางปริมาณน้ำส้มให้มีความเหมาะสมต่อการบริโภค

5.2 ข้อเสนอแนะ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อนจากการทดลองนี้ไม่สามารถนำมาใช้เปรียบเทียบในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูได้ เพราะผลการวิเคราะห์ที่ได้เป็นของข้าวโพดฝักอ่อนซึ่งต่างจากน้ำหมักข้าวโพดฝักอ่อนที่เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการหมักน้ำส้มสายชู ดังนั้นผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในสารสกัดข้าวโพดฝักอ่อนจึงใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนเพื่อให้ทราบถึงค่าเริ่มต้นของวัตถุดิบ

ส่วนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูในเชิงอุตสาหกรรม หากมุ่งประเด็นการผลิตเพื่อประโยชน์ในการต้านอนุมูลอิสระ การพัฒนาและปรับปรุงรสชาติจะต้องคำนึงถึงกลิ่นและรสชาติ เนื่องจากน้ำส้มสายชูมีกลิ่นฉุนรุนแรงและมีรสชาติเปรี้ยวบาดคอ ซึ่งอาจมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค หากต้องการเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูให้มีค่าสูงขึ้น แนวทางในอาจใช้วัตถุเจือปนอาหาร (Food Ingredient) ที่มีความความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง มาใช้ร่วมพัฒนาได้

บรรณานุกรม

ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม. 2549. สารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญในพืชที่ใช้เป็นอาหาร. 25 ปี อุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพ : สำนักพิมพ์ บริษัทเอสทีซีมีเดียแอนด์มาร์เก็ตติ้ง. หน้า 78-90.

ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม และ วันทนีย์ ช้างน้อย. 2545. การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารสกัดจากเมล็ดพืชตระกูลส้มสายพันธุ์ต่างๆ ที่ปลูกในประเทศไทย. อาหาร. 32 : 300-307.

วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. กรุงเทพ : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สุมาลี เหลืองสกุล. 2535. จุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร. กรุงเทพ.

Association of Official Analytical Chemists [AOAC]. Official methods of analysis sugar and sugar products. Arlington; 1984.

Alonso, A.M., Castro, R., Rodriguez, M.C., Guillen, D.A. and Barroso, C.G. 2004. Study of the antioxidant power of brandies and vinegars derived from Sherry wines and correlation with their content in polyphenols. *J. Food res. int.* 37 : 715 - 721.

Andlauer, W ., Stumpf, C. and Fürst, P. 2000. Influence of the acetification process on phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 48 : 3533 -3536.

AOAC. 1995. Official method of analysis. 1995. 16th ed. Association of Analysis Chemistrys. Virginia.

Bosanek, C.A., Bosanek, C.A., Silliman, K., Kirk, L.L. and Frankel, E.N. 1996. Total phenolic content and antioxidant potential of commercial grape Juice. *J. American Dietetic Association*. 96 : September 1996, 35.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Tech.* 28 : 25-30.

Bravo, L. 1998. Polyphones: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr. Rev.* 56 : 317-333.

Dávalos, A., Bartolomé, B. and Gómez-Cordovés, C. 2005. Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. *J. Agric. Food Chem.* 93 : 325-330.

Ebihara, K. and Nakajima, A. 1998. Effect of acetic acid and vinegar on blood glucose and insulin responses to orally administered sucrose and starch. *Agric Biol Chem.* 52 : 1311-1312.

Fontenot, B. 1997. The sour truth about apple cider vinegar - evaluation of therapeutic use. *Nutrition Forum.* Nov-Dec, 1997.

Graf, E. 1992. Antioxidant potential of ferulic acid. *Free Rad. Biol. Med.* 13 : 435-448.

Hu, F.B., Stampfer, M.J. and Manson, J.E. 1999. Dietary intake of alpha-linolenic acid and risk of fatal ischemic heart disease among women. *Am J Clin Nutr.* 69 : 890-897.

Johnston, C.S., Kim, C.M. and Buller, A.J. 2004. Vinegar improves insulin sensitivity to a high carbohydrate meal in subjects with insulin resistance or type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 27 : 281-282.

Kondo, S., Tayama, K., Tsukamoto, Y., Ikeda, K. and Yamori, Y. 2001. Antihypertensive effects of acetic acid and vinegar on spontaneously hypertensive rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* 65 : 2690-2694.

Liljeberg, H. and Bjorck, I. 1998. Delayed gastric emptying rate may explain improved glycemia in healthy subjects to a starchy meal with added vinegar. *Eur. J. Clin. Nutr.* 64 : 886-893.

Leeman, M., Ostman, E. and Bjorck, I. 2005. Vinegar dressing and cold storage of potatoes lowers postprandial glycemic and insulinaemic responses in healthy subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.* 59 : 1266-1271.

Masuda, T., Yamada, K., Maekawa, T., Takeda, Y. and Yamaguchi, H. 2006. Antioxidant mechanism studies on ferulic acid : isolation and structure identification of the main antioxidant product from methyl ferulate. *J. Food Sci. Technol. Res.* 12 : 173-177.

Mimura, A., Suzuki, Y., Toshima, Y., Yazaki, S., Ohtsuki, T., Ui, S. and Hyodoh, F. 2004. Induction of apoptosis in human leukemia cells by naturally fermented sugar canevinegar (kibizu) of Amami Ohshima Island. *Biofactors.* 22 : 93-97.

Min-Sheng, S. and Juan, L.S. 2006. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (Vaccinium ashei) by-products as affected by fermentation. *J. Food chem.* 97 : 447-451.

Morales M.L., Tesfaye, W., García-Parrilla, M.C., Casas, J.A. and Troncoso, A.M. 2001. Sherry wine vinegar: physicochemical changes during the acetification process. *J. Sci. Food. Agri.* 81 : 611-619.

Nanda, K., Miyoshi, N. and Nakamura, Y. 2004. Extract of vinegar "Kurosu" from unpolished rice inhibits the proliferation of human cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res.* 23 : 69-75.

Nishino, H., Murakoshi, M. and Mou, X.Y. 2005. Cancer prevention by phytochemicals. *Oncology.* 69 : 38-40.

Nishidai, S., Nakamura, Y. and Torikai, K. 2000. Kurosu, a traditional vinegar produced from unpolished rice, suppresses lipid peroxidation in vitro and in mouse skin. *Biosci Biotechnol Biochem.* 64 : 1909-1914.

Nishiyama, Y., Miyakawa, Y., Miyagawa, F., Mura, K. and Tokue, C. 2003. Antioxidative smoke flavor extraction in wood vinegar prepared from drift wood. *J. Japanese Society of Nutrition and Food Science.* 50 : 530-536.

Nystrom, L., Makinen, M., Lampi, A.M. and Piironen, V. 2005. Antioxidant activity of steryl ferulate extracts from rye and wheat bran. *J. Agric. Food Chem.* 53 : 2503-2510.

Ostman, E.M., Liljeberg, E.H.G. and Bjorck, I.M. 2001. Inconsistency between glycemic and insulinemic responses to regular and fermented milk products. *Am. J. Clin. Nutr.* 74 : 96-100.

Ostman, E.M., Granfeldt ,Y., Persson, L. and Bjorck, I. 2005. Vinegar supplementation lowers glucose and insulin responses and increases vatiety after a bread meal in healthy subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.* 59 : 983-988.

Ou, S. and Kwok, K.C. 2004. Ferulic acid : pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. *J. Sci. Food Agic.* 84 : 1261-1269.

Plew, R.W. 1970. Analytical Method Used in Sugar Refining. Elsevier Publishing Company Limited : London. New York.

Roberts, S.B. 2000. High-glycemic index foods, hunger, and obesity. *Nutr. Rev.* 58 : 163-169.

Roy, D. , Das, R., Chakraborty, S., Ghosh, M. and Ghosh, S. 2006. Antioxidative effect of polyphenols present in corn (*Zea mays L.*). *J. Indian Chem. Soc.* 83 : 1127-1129.

Saulnier, L. and Thibault, J.F. 1999. Ferulic acid and diferulic acids as components of sugar-beet pectins and maize bran heteroxylans. *J. Sci. Food Agric.* 79 : 396-402.

Shahidi, F. and Naczk, M. 2004. Phenolics in Food and Nutracenticals. CRC Press.

Shimoji, Y., Kohno, H. and Nanda, K. 2004. Extract of Kurosu, a vinegar from unpolished rice, inhibits azoxymethane-induced colon carcinogenesis in male F344 rats. *Nutr Cancer*. 49 : 170-173.

Singleton, V.L. and Noble, A.C. 1976. Phenolic Sulfur and Nitrogen Compounds in Food Flavors. American Chemical Society. Washington, D.C. 47-70.

Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16 : 144-158.

Sugiyama, M., Tang, A.C., Wakaki, Y. and Koyama, W. 2003. Glycemic index of single and mixed meal foods among common Japanese foods with white rice as a reference food. *Eur. J. Clin. Nutr.* 57 : 743-752.

Tesfaye, W., Morales, M.L., Benítez, B., García-Parrilla, M.C. and Troncoso, A.M. 2004. Evolution of wine vinegar composition during accelerated aging with oak chips. *Analytica Chimica Acta.* 513 : 1239-245.

Trinidad, T.P., Wolever, T.M. and Thompson, L.U. 1996. Effect of acetate and propionate on calcium absorption from the rectum and distal colon of humans. *Am J Clin Nutr.* 63 : 574-579.

Verzelloni, E., Tagliazucchi, D., Panicucci, E. and Conte, A. 2006. Relationship between the antioxidant properties and the phenolic and flavonoid content in traditional Balsamic vinegar. *Pharmacologyonline.* 3 : 72-77.

Xibib, S., Meilan, H. and Moller, H. 2003. Risk factors for oesophageal cancer in Linzhou, China: a case-control study. *Asian Pac J Cancer Prev.* 4 : 119-124.

Yamaji, K., Nagano, M. and Maruyama, I. 2001. Radical scavenging activity of kurozu (Brewed rice vinegar) on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl and its antioxidant effect on human low-density lipoprotein. *J. Japanese Society of Nutrition and Food Science.* 54 : 89-93.

Yoshimoto, M., Kurata-Azuma, R., Fujii, M., Hou, D., Ikeda, K., Yoshidome, T. and Osako, M. 2004. Phenolic composition and radical scavenging activity of sweetpotato-derived Shochu distillery by-products treated with koji. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68 : 2477-2483.

en.wikipedia.org/wiki/Vinegar - 74k -. Vinegar. Accessed date 11 March 2007.

www.anyvitamins.com/apple-cider-vinegar-info.htm - 36k - Apple cider vinegar. Accessed date 4 May 2007.

www.bangkokbizweek.com/20060101/foodbiz/index.php?news=column_19397617.html - 18k Accessed date 22 June 2007.

www.fda.gov/ora/compliance_ref/cpg/cpgfod/cpg525-825.html. US.Food and Drug Administration. Accessed 21 June 2006.

www.gpo.or.th. Antioxidant. Accessed date 19 March 2007.

www.manager.co.th/Around/AroundShowWord.asp?wordday_id=43&Alphabet=a - 60k. Antioxidant free radical. Accessed date 20 March 2007.

utcc2.utcc.ac.th/www/divisions/academicaffairs/journals/24th/May_Aug/theme2nd.htm - 5k. Antioxidative potential and antioxidant activity determination of plant extracts. พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล. Accessed date 20 March 2007.

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995)

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง (สารสกัดข้าวโพดฝักอ่อนปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร ไวน์ 0.4 มิลลิลิตร น้ำส้มสายชู 1.0 มิลลิลิตร และเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู 0.4 มิลลิลิตร) ลงในหลอดทดลองโดยรวมกับเอทานอล 70% ให้ได้ปริมาตรรวม 5.4 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย DPPH ในเอทานอล 95% ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที (สำหรับ control ให้ใช้เอทานอล 70% แทนสารตัวอย่าง)
2. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร
3. คำนวณค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH จากสูตร

$$\text{\% ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ} = 1 - \left(\frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของ control}} \right) \times 100$$

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (Singleton *et al.*, 1998)

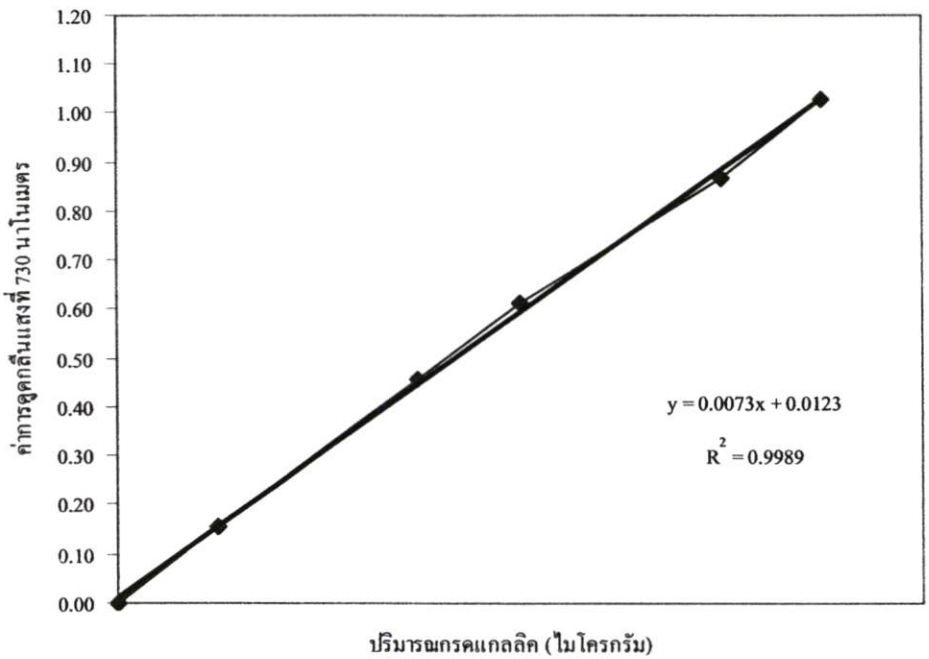
วิธีการ การเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค

1. ชั่งกรดแกลลิค 0.04 กรัม ละลายในเอทานอล 95% ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร
2. เตรียมหลอดทดลองที่มีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิคที่มีความเข้มข้นดังตารางที่ ข1

ตารางที่ ข1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิคที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค

หลอดทดลองที่	สารละลายกรดแกลลิค (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	ปริมาณกรดแกลลิค (ไมโครกรัม)
1	0	10	0
2	0.05	9.95	20
3	0.10	9.90	40
4	0.15	9.85	60
5	0.20	9.80	80
6	0.25	9.75	100
7	0.30	9.75	120

3. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteau 0.5 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที
4. เติมสาระละลาย Na_2CO_3 เข้มข้น 10% จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้อง 10 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงดังกล่าวกับปริมาณกรดแกลลิคเป็นไมโครกรัม



ภาพที่ ข1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิค

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่าง

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง (สารสกัดข้าวโพดฝักอ่อนปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร ไวน์ 0.5 มิลลิลิตร น้ำส้มสายชู 1.0 มิลลิลิตร และเครื่องดื่มน้ำส้มสายชู 2.0 มิลลิลิตร) ใส่ในหลอดทดลองและเติมน้ำกลั่น 9.5 มิลลิลิตร (สำหรับ blank ใช้เอทานอล 95% แทนสารตัวอย่าง)
2. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteau ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที
3. เติมสาระละลาย Na_2CO_3 เข้มข้น 10% จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค

ภาคผนวก ค

วิธีการวิเคราะห์ความเป็นกรด (Acidity)

วิธีการเตรียมรีเอเจนต์

1. น้ำที่ปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์ เตรียมโดยต้มน้ำกลั่น 20 นาที ปิดฝาเพื่อป้องกันไม่ให้ CO_2 ละลายลงในน้ำกลั่น แล้วทิ้งให้เย็น

2. ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 4.1 กรัม (ทศนิยม 1 ตำแหน่ง) ลงในบีกเกอร์ ปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นต้ม

วิธีการเตรียมฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)

ชั่งฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein) 1 กรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย 95% แอลกอฮอล์

วิธีทำ Standardization

1. อบโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลท ใช้แท่งแก้วค่อยๆกดให้ผลึกของ $KHC_8H_4O_4$ ละเอียดเป็นผงใส่ลงในขวดชั่ง วางขวดชั่งลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดด้วยกระจกนาฬิกา แล้วนำไปอบที่120 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น ในโถดูดความชื้น

2. ชั่ง $KHC_8H_4O_4$ ที่อบแห้งแล้วให้ได้น้ำหนักโดยละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง ให้มีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 0.51 – 0.52 กรัม ใส่ลงในขวดรูปกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร ทำอย่างน้อย 2 ซ้ำ ใส่ลงใน Flask 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นปราศจาก CO_2 50 มิลลิลิตร คนจนสารละลายหมด

3. หยด 1% ฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยดทำ blank โดยใช้น้ำกลั่นปราศจาก CO_2 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปกรวยโดยไม่ต้องเติม $KHC_8H_4O_4$ หยดฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด

4. ไทเทรต blank กับสารละลาย NaOH ที่เตรียมไว้ประมาณ 2-3 หยด เมื่อถึงจุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพู ให้วางขวด blank ไว้ข้างบิวเรต

5. ไทเทรตกับ 0.1 N NaOH จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูใสจางๆ

6. บันทึกปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ (ปริมาตรของ NaOH ไม่ควรต่างกันเกิน 0.1 มิลลิลิตร)

7. คำนวณ Normality ตามสูตร

$$\text{Normality} = \frac{\text{กรัมของ } KHC_8H_4O_4 \times 1000}{204.22 \times \text{ml. ของ NaOH}}$$

วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ตวงน้ำกลั่นที่ต้มแล้ว 50 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปกรวยขนาด 200 มิลลิลิตร เติม 1% ฟีนอล์ฟทาลีน 1 มิลลิลิตร

2. ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH จนได้สีชมพูจางๆ หรือพีเอช 8.2 ปริมาตรที่ไทเทรตได้เป็นค่า blank และใช้เป็นสารละลายเทียบสีมาตรฐาน

3. ปีเปตตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นที่ต้มแล้ว 200 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปกรวยขนาด 500 มิลลิลิตร เติม 1% ฟีนอล์ฟทาลีน 1 มิลลิลิตร

4. ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1N NaOH เทียบสีของจุดยุติให้ได้สีเดียวกับสารละลายมาตรฐาน

5. ทำการไทเทรตตัวอย่างอย่างน้อย 3 ซ้ำ

6. คำนวณค่าความเป็นกรดตามสูตร

$$\text{ค่าความเป็นกรด} = \frac{(V)(N)(Eq.Wt)(100)}{(1000)(v)}$$

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน NaOH

N = นอร์มัลที่แท้จริงของสารละลายมาตรฐาน NaOH

v = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้

Eq.Wt = น้ำหนักสมมูลย์ของกรด (ทาร์ทาริค (tartaric) = 75, มาลิค (malic) = 67, ซิตริค (citric) = 64, แลคติค (lactic) = 90, ซัลฟูริค (sulfuric) = 49, อะซิติค (acetic) = 60)

7. บันทึกค่าที่คำนวณได้

ภาคผนวก ง

วิธีการวิเคราะห์ค่า pH

1. ใช้น้ำกรองล้างอิเล็กโทรดก่อนการใช้งาน เพื่อชะล้างสิ่งสกปรกที่ติดอยู่กับตัวอิเล็กโทรด
2. กดปุ่ม 'ON' ตรวจดูว่าเครื่องอยู่ในโหมดการวัด 'MEAS' ซึ่งคำว่า 'MEAS' จะปรากฏที่หน้าจอ LCD ส่วนบน ตรงกลาง
3. จุ่มหัวอิเล็กโทรด pH และหัววัดอุณหภูมิลงในสารตัวอย่างที่ต้องการวัดให้ลึกประมาณ 4 เซนติเมตร หรือ 1.5 นิ้ว คนในสารละลายตัวอย่างเบาๆ หลังจากนั้นรอประมาณ 1-2 นาที เพื่อให้ค่าที่วัดได้คงที่
4. เมื่อค่าที่อ่านได้คงที่ จะปรากฏคำว่า 'READY' ที่หน้าจอ LCD
5. บันทึกค่าที่อ่านได้

หมายเหตุ : ควรเก็บปลายกระเปาะอิเล็กโทรดไว้ในสารละลาย KCl เสมอ
pH Buffer ควรเก็บไว้ในตู้เย็นเสมอ

การสอบเทียบเครื่อง pH meter (Calibration)

1. กดปุ่ม เปิดเครื่อง 'ON' หน้าจอจะปรากฏขึ้นหลังจากเปิดเครื่อง 2 – 3 วินาที หลังจากนั้นหน้าจอจะเข้าสู่ขั้นตอนการวัดค่า pH โดยจะปรากฏข้อมูลต่อไปนี้
   - MEAS โหมดการวัดที่ถูกเลือก
   - pH ค่า pH ที่อ่านได้
   - °C ค่าอุณหภูมิที่อ่านได้
2. ล้างหัววัด (Probe) ด้วยน้ำกลั่น
3. จุ่มหัววัด (Probe) ลงในน้ำยาบัฟเฟอร์ 7.00
4. กดปุ่ม 'CAL' และรอจนหน้าจอปรากฏคำว่า 'READY'
5. กดปุ่ม 'CON' เพื่อยืนยันการ Calibrate
6. ทำการจุ่มหัววัด (Probe) ลงในน้ำยาบัฟเฟอร์ 4.01 รอจนหน้าจอปรากฏคำว่า 'READY'
7. กดปุ่ม 'CON' เพื่อยืนยันการ Calibrate
8. กดปุ่ม 'CAL/MEAS' เพื่อสิ้นสุดการ Calibrate และกลับไปสู่ขั้นตอนการวัดค่า pH ต่อไป

ภาคผนวก จ

วิธีการวิเคราะห์น้ำตาลด้วยวิธี Lane & Eynon (Lane and Eynon method : AOAC, 1984)

การทำ Standardization

1. ชั่ง Sucrose 0.5 กรัม ด้วยเครื่องชั่งละเอียด เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เติม HCl (1: 1) แล้ว Hydrolyze ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 10 - 15 นาที หรือตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วทำให้เป็นกลางหรือเป็นกรดเล็กน้อยด้วย NaOH 20% ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย Volumetric flask (Invert sugar solution)

2. ผสม Fehling A และ B อย่างละ 5 มิลลิลิตร ใน Flask 125 มิลลิลิตร กับสารละลายน้ำตาล (จากข้อ 1) 9 มิลลิลิตร ต้มจนเดือด

3. เติม Methylene blue 3-4 หยด

4. ไทเทรตด้วยสารละลายน้ำตาลต่อไปจนสีฟ้าหมดไป และมีตะกอนสีแดงอิฐของ Cu_2O

5. นำไปหาค่า Factor

การ Hydrolyze ตัวอย่างไวน์

1. ใส่ตัวอย่างไวน์ x มิลลิลิตร ลงใน Volumetric flask แล้ว Hydrolyze ตัวอย่างดังต่อไปนี้

ตัวอย่าง 15 องศาบริกซ์ขึ้นไป ใช้ตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย HCl (1:1) 1 มิลลิลิตร

ตัวอย่าง 10-15 องศาบริกซ์ ใช้ตัวอย่าง 4 มิลลิลิตร เติมสารละลาย HCl (1:1) 2 มิลลิลิตร

ตัวอย่าง 5 องศาบริกซ์ ใช้ตัวอย่าง 6 มิลลิลิตร เติมสารละลายHCl (1:1) 3 มิลลิลิตร

ตัวอย่าง 5-0 องศาบริกซ์ ใช้ตัวอย่าง 8 มิลลิลิตร เติมสารละลาย HCl (1:1) 4 มิลลิลิตร

2. Hydrolyze ใน Hot air oven ที่ 70 องศาเซลเซียส ประมาณ 10-15 นาที

3. ทำให้เย็นแล้วปรับค่า pH ให้เป็นกลางหรือเป็นกรดเล็กน้อยด้วย NaOH 20% ซึ่งปริมาณที่ใช้มีดังนี้

ถ้าใช้กรด HCl	1 มิลลิลิตร	เติม 20% NaOH	0.95 มิลลิลิตร
ถ้าใช้กรด HCl	2 มิลลิลิตร	เติม 20% NaOH	1.95 มิลลิลิตร
ถ้าใช้กรด HCl	3 มิลลิลิตร	เติม 20% NaOH	2.95 มิลลิลิตร
ถ้าใช้กรด HCl	4 มิลลิลิตร	เติม 20% NaOH	3.95 มิลลิลิตร

4. เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วทำให้เป็นกลางหรือเป็นกรดเล็กน้อยด้วย NaOH 20% ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วย volumetric flask

5. ผสม Fehling A และ B อย่างละ 5 มิลลิลิตร ใน Flask 125 มิลลิลิตรกับสารละลายน้ำตาล (จากข้อ 1) 9 มิลลิลิตร ต้มจนเดือด

6. เติม Methylene blue 3-4 หยด
7. Titrate ด้วยสารละลายน้ำตาลต่อไปจนสีฟ้าหมดไป และมีตะกอนสีแดงอิฐของ Cu_2O
8. นำไปหาค่า Factor
9. บันทึกค่าที่วัดได้

การคำนวณ

$$\text{ค่า Factor} = \frac{360.312\ xy}{342.296 \times 100}$$

$$\text{\% Total invert sugar} = \frac{\text{Factor} \times \text{ปริมาตร 100 มิลลิลิตร} \times 100}{\text{จำนวนตัวอย่าง} \times \text{ค่าไทเทรต}}$$

หมายเหตุ x = น้ำหนัก sucrose

Y = ปริมาณสารละลาย sucrose ที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับ Fehling (A+B) 10 มิลลิลิตร

ข้อควรระวัง

1. การไทเทรตของ Standard solution ควรใช้ไม่เกิน 10 มิลลิลิตร เมื่อใช้ Fehling A + B 10 มิลลิลิตร ถ้าใช้ Fehling solution A + B 25 มิลลิลิตร โดยใช้ไม่เกิน 25 มิลลิลิตร
2. เมื่อนำมาคำนวณหาค่า Factor ของ Fehling (A + B) ควรจะมีค่าไม่เกิน 0.04 – 0.06
3. ถ้า Factor = 0.05 หมายถึง invert sugar 0.05 กรัมทำปฏิกิริยาพอดีกับ Fehling dolution A + B 10 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ฉ

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยอัลบูลิโอมิเตอร์

การปฏิบัติงาน

1. การเตรียม NaOH 10%

   ชั่ง NaOH 10 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2. หาจุดเดือดของน้ำ

   2.1 เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ 50 มิลลิลิตร ใส่ลง ในกระบอกต้ม (Boiling chamber) เสียบเทอร์โมมิเตอร์ให้ปลายอยู่เหนือน้ำในกระบอกต้ม ต่อส่วนควบแน่น (Reflux condenser) โดยไม่ต้องเติมน้ำลงไป

   2.2 จุดตะเกียงแอลกอฮอล์ในตำแหน่งล่างสุดของกระบอกต้มต้มกระทั่งน้ำเดือด สังเกตดูจะมีไอน้ำขึ้นจากกระบอกต้มที่ว่าง

   2.3 อ่านอุณหภูมิของน้ำเดือดเมื่อปรอทขึ้นไปจนคงที่

   2.4 หมุนปรับตรงสเกลให้ลูกศรอยู่ตรงตำแหน่งที่อ่านค่าจุดเดือดของน้ำ ค่าที่อ่านได้จะตรงกับค่า 0.0% ของแอลกอฮอล์ (ดูสเกลด้านนอก) เสร็จแล้วจึงดึงเทอร์โมมิเตอร์ออก เปิดน้ำทิ้งไป

3. หาจุดเดือดของตัวอย่าง

   3.1 ใส่ตัวอย่างไวน์ที่วิเคราะห์จำนวน 50 มิลลิลิตร ในกระบอกต้ม และต่อส่วนควบแน่น เติมน้ำเย็นลงไปในส่วนของตัวควบแน่น เสียบเทอร์โมมิเตอร์

   3.2 จุดไฟให้ความร้อนจนไวน์เดือด ดูระดับปรอทซึ่งขึ้นไปและคงที่

   3.3 อ่านค่าจุดเดือดของไวน์ตัวอย่าง (ดูสเกลด้านใน) จากแผ่นอ่านค่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์โดยปริมาตรจากสเกลด้านนอก บันทึกค่าที่อ่านได้

หมายเหตุ

1. จุดตะเกียงแอลกอฮอล์ในตำแหน่งล่างสุดของกระบอกต้ม ต้มกระทั่งด่างเดือด เทด่างทิ้ง
2. หลังจากนั้นต้ม boiling chamber ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง

การปรับเทียบเครื่องวัดค่าปริมาณแอลกอฮอล์ (Ebulliometer)

1. เมื่อวิเคราะห์ครบ 50 ครั้ง ให้ล้างทำความสะอาดด้วย 10%NaOH
2. ล้างด่างออกให้หมดด้วยน้ำเปล่า 2 ครั้ง
3. หาจุดเดือดของน้ำ เพื่อปรับสเกลของแผ่นอ่านค่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ เพื่อปรับค่าให้เป็น 0.0% Alcohol ทุกครั้งก่อนทำการวัดค่าปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่าง

ภาคผนวก ช

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ (องศาบริกซ์)

การปฏิบัติงาน

1. ยกฝาปิด Hand Refractometer ขึ้น หยดตัวอย่างลงบนปริซึม ปิดฝา
2. หัน Hand Refractometer ไปทางด้านที่มีแสงสว่าง อ่านค่าที่ขอบระหว่างพื้นที่สว่างกับพื้นที่มืด
3. ทำความสะอาด Hand Refractometer โดยล้างปริซึมและฝาปิดทันทีหลังการใช้งานด้วยน้ำสะอาด เช็ดให้แห้งด้วยกระดาษทิชชู
4. บันทึกค่าที่อ่านได้

การปรับเทียบเครื่อง Hand Refractometer (Calibration)

1. ยกฝาเปิด Refractometer ขึ้น หยดน้ำกลั่นลงบนปริซึม ปิดฝา
2. หัน Refractometer ไปทางด้านที่มีแสงสว่าง อ่านค่าที่ขอบระหว่างพื้นที่สว่างกับพื้นที่มืด
3. อ่านค่าที่ขอบพื้นที่สว่างและพื้นที่มืดให้มีค่าเท่ากับศูนย์
4. เมื่ออ่านค่าที่ขอบพื้นที่สว่างและพื้นที่มืดมีค่าไม่เท่ากับศูนย์ ให้หมุนปรับค่าที่ปุ่ม Calibrate ให้มีค่าเท่ากับศูนย์

ภาคผนวก ซ

ตารางที่ ซ.1 เปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในกระบวนการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร

ตัวอย่างไวน์ (ชั่วโมง)	ซ้ำที่ 1		ซ้ำที่ 2		ซ้ำที่ 3		Average	SD
	ค่าการดูดกลืนแสง	คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	ค่าการดูดกลืนแสง	คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	ค่าการดูดกลืนแสง	คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ		
0	0.640	25.15	0.657	23.16	0.634	25.85	24.72	1.40
18	0.635	25.73	0.634	25.85	0.632	26.08	25.89	0.18
32	0.628	26.55	0.638	25.38	0.610	28.66	26.86	1.66
56	0.596	30.29	0.592	30.76	0.603	29.47	30.18	0.65
80	0.610	28.66	0.611	28.54	0.598	30.06	29.08	0.85
104	0.626	26.78	0.636	25.61	0.624	27.02	26.47	0.75
152	0.550	35.67	0.558	34.74	0.546	36.14	35.52	0.71
176	0.611	28.54	0.579	32.28	0.620	27.49	29.43	2.52

ตารางที่ ซ.2 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ในกระบวนการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

ตัวอย่างไวน์ (ชั่วโมง)	ซ้ำที่ 1		ซ้ำที่ 2		ซ้ำที่ 3		Average 0.5 ml	Average 1 ml	SD
	ค่าการดูดกลืนแสง	คำนวณปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (mg/L GAE)	ค่าการดูดกลืนแสง	คำนวณปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (mg/L GAE)	ค่าการดูดกลืนแสง	คำนวณปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (mg/L GAE)			
0	0.278	41.97	0.286	43.16	0.288	43.46	42.87	85.73	1.58
18	0.281	42.42	0.283	42.72	0.282	42.57	42.87	85.13	0.24
32	0.263	39.73	0.261	39.43	0.257	38.84	39.33	78.67	0.74
56	0.340	51.22	0.336	50.63	0.341	51.37	51.07	102.15	0.64
80	0.292	44.51	0.281	42.42	0.284	42.87	43.11	86.23	1.39
104	0.289	43.61	0.299	45.10	0.292	44.06	44.26	88.52	1.25
152	0.339	51.07	0.334	50.33	0.361	54.36	51.92	103.84	3.50
176	0.348	52.42	0.349	52.57	0.341	51.37	52.12	104.24	1.06

ตารางที่ ซ3 เปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน ที่ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร

ตัวอย่างน้ำส้มสายชู (ชั่วโมง)	ซ้ำที่ 1		ซ้ำที่ 2		ซ้ำที่ 3		Average	SD
	ค่าการดูดกลืนแสง	คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	ค่าการดูดกลืนแสง	คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	ค่าการดูดกลืนแสง	คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ		
0	0.413	50.42	0.415	50.18	0.410	50.78	50.46	0.30
19	0.427	48.74	0.415	50.18	0.438	47.42	48.78	1.38
43	0.429	48.50	0.419	49.70	0.433	48.02	48.74	0.87
67	0.436	47.66	0.439	47.30	0.437	47.54	47.53	0.18
92	0.425	48.98	0.423	49.22	0.442	46.94	48.38	1.25

ตารางที่ ซ4 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (mg/L GAE) ในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

ตัวอย่างน้ำส้มสายชู (ชั่วโมง)	ซ้ำที่ 1		ซ้ำที่ 2		ซ้ำที่ 3		Average	SD
	ค่าการดูดกลืนแสง	คำนวณปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (mg/L GAE)	ค่าการดูดกลืนแสง	คำนวณปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (mg/L GAE)	ค่าการดูดกลืนแสง	คำนวณปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (mg/L GAE)		
0	0.300	45.25	0.290	43.76	0.300	45.25	44.76	0.86
19	0.288	43.46	0.281	42.42	0.293	44.21	43.36	0.90
43	0.270	40.78	0.274	41.37	0.276	41.27	41.27	0.46
67	0.260	39.28	0.244	36.90	0.244	36.90	37.69	1.38
92	0.210	31.82	0.221	33.46	0.222	33.61	32.97	0.99

ภาคผนวก ฌ

ตารางที่ ฌ1 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีในไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ชั่วโมงต่างๆ

ตัวอย่างไวน์ (ชั่วโมง)	ปริมาณของแข็งที่เหลืออยู่ (องศาบริกซ์)	pH	ความเป็นกรด (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ปริมาณน้ำตาล (%)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (%)
0	12.4	4.89	0.069	13.571	2.00
18	9.8	3.63	0.096	8.120	5.00
32	9.4	3.57	0.087	6.786	6.00
56	8.0	3.60	0.102	4.299	7.90
80	7.6	3.62	0.114	3.405	10.20
104	7.6	3.63	0.102	3.333	11.15
152	6.8	3.60	0.108	2.026	11.30
176	6.4	3.58	0.105	1.339	11.75

ตารางที่ ฌ2 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีในน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่ชั่วโมงต่างๆ

ตัวอย่างน้ำส้มสายชู (ชั่วโมง)	ปริมาณของแข็งที่เหลืออยู่ (องศาบริกซ์)	pH	ความเป็นกรด (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ปริมาณน้ำตาล (%)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (%)
0	6.2	2.45	1.271	< 1.000	4.00
19	6.4	2.38	1.416	< 1.000	4.00
43	6.6	2.34	1.684	< 1.000	4.00
67	6.8	2.27	1.978	< 1.000	2.00
92	6.8	2.21	2.521	< 1.000	0.00

ประวัติผู้เขียน

นางสาวน้ำฝน ไทยวงษ์ เกิดเมื่อวันที่ 9 มิถุนายน 2519 ที่จังหวัดสุพรรณบุรี สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์) คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปีการศึกษา 2542

- ปี 2542 ปฏิบัติงานในตำแหน่ง หัวหน้าแผนกผลิต
  บริษัท ยูเนี่ยนโฟรเซ่นโปรดักส์ จำกัด
- ปี 2543 ปฏิบัติงานในตำแหน่ง พนักงานวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์
  บริษัท โรงงานน้ำปลาไทย (ตราปลาหมึก) จำกัด
- ปี 2546 ปฏิบัติงานในตำแหน่ง หัวหน้าแผนกควบคุมคุณภาพ/วิจัยและพัฒนา ผลิตภัณฑ์ บริษัท โมเดอร์นฟู้ดอินดัสตรี้ จำกัด
- ปี 2549 ปฏิบัติงานในตำแหน่ง พนักงานวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์
  บริษัท ไทยสพิริทอินดัสตรี จำกัด
- ปัจจุบันปฏิบัติงานในตำแหน่ง หัวหน้าแผนกผลิต
  บริษัทอาหารและยาเพื่อสุขภาพ จำกัด