การพัฒนากรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟด้วยวิธีใหม่

นฤมล บุญมี

ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2562

การพัฒนากรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟด้วยวิธีใหม่

นฤมล บุญมี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การพัฒนากรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟด้วยวิธีใหม่

นฤมล บุญมี

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา นาคประสม)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นักรบ นาคประสม)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หยาดฝน ทนงการกิจ)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(อาจารย์ ดร.กนกวรรณ ตาลดี)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.จตุรภัทร วาฤทธิ์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)
รักษาการแทนรองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน
อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่โจ้
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ชื่อเรื่อง การพัฒนากรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟด้วยวิธีใหม่

ชื่อผู้เขียน นางสาวนฤมล บุญมี

ชื่อปริญญา วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา นาคประสม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนากระบวนการบ่มสำหรับการผลิตน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟโดยใช้เทคนิคอัลตร้าโซนิกส์ร่วมกับเทคนิคการใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมี ทางกายภาพ ทางจุลชีววิทยา วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ และเพื่อศึกษาจลนพลศาสตร์ และความคงตัวของน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ ปัจจัยที่ใช้ในการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ คือ ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ (ร้อยละ 6-10 โดยปริมาตร) ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ร้อยละ 6-14 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) และปริมาณเชื้อแบคทีเรีย (ร้อยละ 5-15 โดยปริมาตร) ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมของผลร่วมปัจจัยเหล่านี้ถูกกำหนดโดยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง แบบบ็อกซ์-เบห์นเคน ผลการทดลองพบว่าปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัยมีผลต่อปริมาณกรดอะซิติกที่ได้ นอกจากนี้การวิเคราะห์ทางสถิติบ่งชี้ว่าข้อมูลที่ได้จากการทดลองมีความเหมาะสมกับสมการพหุนามกำลังสอง เนื่องจากให้ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจเท่ากับ 0.8926 และเมื่อนำสมการทางคณิตศาสตร์มาสร้างกราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนองและกราฟโครงร่างเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลองนี้ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่ส่งผลให้ปริมาณกรดอะซิติกมีค่ามากที่สุดร้อยละ 2.99 ± 0.18 คือ ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ร้อยละ 8 โดยปริมาตร ปริมาณน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 12 โดยปริมาตร และปริมาณเชื้อแบคทีเรียร้อยละ 10 โดยปริมาตร นำน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟที่ได้มาทำการระเหยน้ำเพื่อเพิ่มอัตราการระเหยน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (vacuum evaporator) จนตัวอย่างมีปริมาณกรดอะซิติกอยู่ที่ร้อยละ 6-8 จากนั้นนำมาทำเป็นตัวทำลายสำหรับการสกัดสารสำคัญจากผงไม้โอ๊ค โดยใช้อัตราส่วนผงไม้โอ๊คต่อน้ำส้มสายชู 7 กรัม ต่อ 1 ลิตร สกัดด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิกส์ที่ความถี่ 28 kHz เป็นเวลานาน 30 นาที คุณสมบัติทางเคมีของบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่ได้ พบว่ามีปริมาณกรดอะซิติกอยู่ที่ร้อยละ 6-8 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเฉลี่ยเท่ากับ 10 องศาบริกซ์ มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เฉลี่ยอยู่ที่ 3.47 นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ยอยู่ที่

571.92 มิลลิกรัมแกลลิก/250 มิลลิลิตร ซึ่งมีความสอดคล้องกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH) เฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 49.69 ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่ได้ทำการประเมินอายุการเก็บรักษาในสภาวะเร่งโดยใช้ปฏิกิริยาทางจลนพลศาสตร์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าครึ่งชีวิต (Half-life) อยู่ที่ 129.51, 117.20 และ 84.62 สัปดาห์ ตามลำดับ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ มีค่าครึ่งชีวิต (Half-life) อยู่ที่ 124.54, 83.24 และ 69.99 สัปดาห์ ตามลำดับ โดยผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟมีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ได้ประมาณ 1-2 ปี โดยไม่ทำให้ปริมาณฟีนอลิกสลายไป และมีค่าความความคงตัวมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ : น้ำส้มสายชูบัลซามิก, เนื้อผลกาแฟ, อัลตร้าโซนิกส์, เครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ

Title PROCESS DEVELOPMENT OF BALSAMIC VINEGAR FROM COFFEE PULP WITH NEW METHOD

Author Miss Naruemon Boonmee

Degree Master of Engineering in Food Engineering

Advisory Committee Chairperson Assistant Professor Dr. Kanjana Narkprasom

ABSTRACT

The objectives of this research were to develop aging process of Balsamic vinegar from coffee pulp using ultrasonic and vacuum evaporator techniques, as well as to study chemical and physical properties, microbiological bioactive testing, sensory evaluation and the kinetic and stability of Balsamic vinegar. Variables used to study the optimal conditions of acetic acid production for fermented vinegar from coffee pulp include concentration of alcohol (6-10%, by volume), concentration of glucose (6-14%, w/v) and concentration of bacteria (5-15% by volume). Furthermore, optimal combination of these variables were determined using respond surface methodology (RSM) by box-behnken design (BBD). The results showed that all three factors affected the acetic acid. Moreover, statistical analysis indicated that the experimental data should be fitted to the quadratic polynomial equation because of it high coefficient of determination with R-square of 0.8926. The three-dimensional response surface plot and the contour plot derived from the mathematical models were used to determine the optimum conditions of acetic acid production for fermented vinegar from coffee pulp. The highest yields of acetic acid production were obtained when the samples were fermented with 8% alcohol content, 12% glucose content and 10% bacteria content. The vinegar from coffee pulp has been evaporated. In order to increase the evaporation rate from the product a vacuum evaporator was used until the sample contains 6-8 percent of acetic acid. After which the vinegar was used as a solvent for important substances extraction from oak powder by using the ratio of 7 grams of oak powder to 1 liter of vinegar for 30 minutes. The chemical properties of balsamic from the

coffee were 6-8% acetic acid, the total dissolved solids of 10 degrees Brix with an average pH of 3.47. In addition, the average total phenolic content is 571.92 mgGAE/250ml, which is consistent with the antioxidant activity (the percentage of DPPH inhibition) averaged at 49.69%. Balsamic vinegar from coffee pulp was evaluated for accelerated shelf life stored at 25, 35 and 45 degrees celsius using kinetic reaction. The total amount of phenolic compounds had a half-life of 129.51, 117.20 and 84.62 weeks, respectively, and the antioxidant activity had half-life of 124.54, 83.24 and 69.99 weeks respectively. Balsamic vinegar from coffee pulp had shelf life of 1-2 years and stability value greater than 90 percent.

Keywords : Balsamic vinegar, Coffee pulp, Ultrasonic, Vaccuum evaporator

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้ทำการศึกษาเรื่องการพัฒนากรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟด้วยวิธีใหม่ เป็นวิทยานิพนธ์ที่ผู้จัดได้ทุ่มเทความตั้งใจ สติปัญญา กำลังกาย และกำลังใจจนกระทั่งสำเร็จลุล่วง โดยได้รับความอนุเคราะห์ คำแนะนำ และความช่วยเหลือจากบุคคลหลายฝ่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งขอขอบพระคุณท่านผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา นาคประสม ซึ่งเป็นประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้กรุณาสละเวลาให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา และความช่วยเหลือต่างๆ จนวิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี จึงใคร่ขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้เป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นักรบ นาคประสม และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. หยาดฝน ทนงการกิจ ซึ่งเป็นกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้ให้คำแนะนำ ความรู้ คำปรึกษาในเรื่องการออกแบบการทดลองและการทดสอบต่างๆ อันเป็นประโยชน์ในการจัดทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร. กนกวรรณ ตาลดี ซึ่งเป็นกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้ให้คำแนะนำ ความรู้ คำปรึกษาในเรื่องการเตรียมเชื้อสำหรับการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก การวิเคราะห์ต่างๆ รวมถึงเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการทดลองในการวิจัยครั้งนี้จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และบริษัท ฮิลล์คอฟฟ์ จำกัด ภายใต้โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ระดับปริญญาโท ประจำปี 2560 ที่ให้ทุนสนับสนุนค่าใช้จ่ายในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณสาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่มีความอนุเคราะห์ให้ใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ และคุณทองลา ภูคำวงศ์ ที่คอยให้คำปรึกษาและคำแนะนำวิธีการใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือด้านอื่นๆ

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ถ่ายทอดวิชาความรู้ให้แก่ข้าพเจ้าจนกระทั่งสำเร็จการศึกษา และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำสาขาวิชาวิศวกรรมเกษตรและวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร และเจ้าหน้าที่บัณฑิตวิทยาลัยทุกท่าน ตลอดจนพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ที่คอยช่วยเหลือให้การศึกษาสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ท้ายสุดขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ รวมทั้งญาติพี่น้องทุกคนที่อบรมสั่งสอน ชี้แนะแนวทางในการดำเนินชีวิต ตลอดจนให้การสนับสนุน อุปการะเลี้ยงดูข้าพเจ้าตลอดมาจนกระทั่งสำเร็จการศึกษาในครั้งนี้

นฤมล บุญมี

มหาวิทยาลัยแม่โจ้
MAEJO UNIVERSITY

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ฌ

สารบัญตาราง ..... ฏ

สารบัญภาพ ..... ฑ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความสำคัญของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 3

ขอบเขตของงานวิจัย 3

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4

บทที่ 2 ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร 5

ลักษณะทั่วไปของกาแฟอาราบิก้า 5

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 6

สารสำคัญที่พบในกาแฟ 7

น้ำส้มสายชู 8

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู 10

ขั้นตอนการผลิตน้ำส้มสายชู 10

น้ำส้มสายชูบัลซามิก 11

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) 12

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity determination) 13

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometry) 14
วิธีการพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology; RSM) 17
อัลตร้าโซนิกส์ 20
การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) 20
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 21
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี เชื้อแบคทีเรีย และวิธีการทดลอง 23
วัตถุดิบ 23
เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย 23
สารเคมี 24
เชื้อจุลินทรีย์ 24
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 24
วิธีการดำเนินการทดลอง 25
การศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัวของสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ 31
การศึกษากฎอัตราปฏิกิริยาการสลายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระและค่าครึ่งชีวิต 31
การคำนวณค่าครึ่งชีวิต 32
แผนการดำเนินงาน 33
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ 34
กระบวนการผลิตแอลกอฮอล์จากเนื้อผลกาแฟ 34
การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ 36
เทคนิคการใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศในการระเหยน้ำส้มสายชูเป็นบัลซามิกเนื้อผลกาแฟ 44
เทคนิคอัลตร้าโซนิกส์ในการสกัดสารโอ๊คแลคโตนจากผงไม้โอ๊คในการพัฒนากระบวนการบ่มบัลซามิกเนื้อผลกาแฟ 45
การทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ 46

การศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 48
การตรวจวิเคราะห์ทางเคมี ทางกายภาพ และทางจุลชีววิทยของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ 55
คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ 59
การวิเคราะห์สารปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ 61
ต้นแบบของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ 63
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ 64
สรุปผลการทดลอง 64
ปัญหาที่พบ 66
ข้อเสนอแนะ 66
บรรณานุกรม 68
ประวัติผู้วิจัย 72

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตกรดน้ำส้มสายชูที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู 10

ตารางที่ 2 ความเข้มสีของสารละลายแต่ละความยาวคลื่น 16

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและรหัสของตัวแปร..... 28

ตารางที่ 4 การวางแผนการทดลองด้วยวิธี Box-Behken Design..... 28

ตารางที่ 5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก 30

ตารางที่ 6 ผลของการออกแบบพื้นที่ผิวตอบสนองของปริมาณกรดอะซิติก โดยวิธีการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behken Design (BBD) 37

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก 39

ตารางที่ 8 การเปรียบเทียบปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากการทดลอง และจากสมการทำนายสภาวะที่เหมาะสมของแบบจำลอง 43

ตารางที่ 9 ตารางแสดงส่วนผสมของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ (ร้อยละ)..... 47

ตารางที่ 10 แสดงคะแนนความพึงพอใจเฉลี่ยรวมของผู้บริโภคสำหรับผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ 47

ตารางที่ 11 การสำรวจลำดับความสำคัญของเหตุผลที่จะมีต่อการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ 48

ตารางที่ 12 อิทธิพลจลนพลศาสตร์และความค่าคงตัวที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 49

ตารางที่ 13 แสดงความคงตัวและอายุการเก็บรักษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ ที่อุณหภูมิ 25 35 และ 45 องศาเซลเซียส..... 51

ตารางที่ 14 อิทธิพลจลนพลศาสตร์และความค่าคงตัวที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 52

ตารางที่ 15 แสดงความคงตัวและอายุการเก็บรักษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ ที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส 55

ตารางที่ 16 การเปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มสายชูหมักและบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ 56
ตารางที่ 17 การวัดค่าสีของน้ำส้มสายชูหมักและบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟเปรียบเทียบกับสีของบัลซามิกจากองุ่นที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด (ยี่ห้อ A B และ C) 57
ตารางที่ 18 แสดงคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟฉบับภาษาไทย 60
ตารางที่ 19 แสดงคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟฉบับภาษาอังกฤษ 61
ตารางที่ 20 แสดงปริมาณสารปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ..... 62

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ลักษณะของกาแฟอาราบิก้า..... 5

ภาพที่ 2 กราฟิก 3 มิติ พื้นที่ผิวตอบสนอง 17

ภาพที่ 3 Mathematical model..... 18

ภาพที่ 4 การออกแบบการทดลองในรูปของกล่อง โดยวิธีพื้นผิวตอบสนองแบบ BBD..... 19

ภาพที่ 5 แสดงขั้นตอนการหมักเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์จากเนื้อผลกาแฟ 25

ภาพที่ 6 แผนภาพขั้นตอนการดำเนินงาน 33

ภาพที่ 7 กระบวนการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (Lalvin EC-1118) โดยใช้น้ำหมักจากเนื้อผลกาแฟแห้งเป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ ซึ่งได้แสดงปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ) และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์) ในระหว่างกระบวนการหมัก..... 35

ภาพที่ 8 กระบวนการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (Lalvin EC-1118) โดยใช้น้ำหมักจากเนื้อผลกาแฟแห้งเป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ ซึ่งได้แสดงปริมาณกรด (ร้อยละ) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในระหว่างกระบวนการหมัก..... 36

ภาพที่ 9 กราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนอง (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ และปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ในการหมัก โดยกำหนดให้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ใช้คงที่ต่อปริมาณกรดอะซิติก กราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนอง (ค) และกราฟโครงร่าง (ง) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ และปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการหมัก โดยกำหนดให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้คงที่ต่อปริมาณกรดอะซิติก กราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนอง (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกลูโคสที่ใช้ และปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการหมัก โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์คงที่ต่อปริมาณกรดอะซิติก 41

ภาพที่ 10 การระเหยน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ 44

ภาพที่ 11 แสดงขั้นตอนการสกัดสารสำคัญจากผงไม้โอ๊คด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิกส์ (ก) ผงไม้โอ๊ค (ข) ใส่ตัวทำละลายในผงไม้โอ๊ค (ค) เครื่องอัลตร้าโซนิกส์ (ง) การสกัดสาร Trans-Quercus lactone 46

ภาพที่ 12 แสดงปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (ก) ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ข) และปฏิกิริยาอันดับสอง (ค) ของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส 51

ภาพที่ 13 แสดงปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (ก) ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ข) และปฏิกิริยาอันดับสอง (ค) ของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่อุณหภูมิ 25 35 และ 45 องศาเซลเซียส 54

ภาพที่ 14 ผลการยับยั้งของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟต่อการดูดซึมคอเลสเตอรอลผ่านการเพิ่มขนาดไมเซลล์ก่อนการดูดซึม เทียบกับแบรนด์อื่นๆ ตามท้องตลาด 57

ภาพที่ 15 แสดงคุณลักษณะของการเปรียบเทียบสีของ (ก) น้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ (ข) บัลซามิกจากเนื้อ ผลกาแฟกับสีของบัลซามิกจากองุ่นที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด (ค) ยี่ห้อ A (ง) ยี่ห้อ B และ (จ) ยี่ห้อ C 58

ภาพที่ 16 การตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ Acetobacter pasteurianus TISTR 102 ในน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ 59

ภาพที่ 17 ผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ 63

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญของปัญหา

ในกระบวนการแปรรูปเมล็ดกาแฟพันธุ์อาราบิก้าต้องนำผลกาแฟสุกที่มีสีแดง (cherries) ไปผ่านเครื่องแยก pulp เพื่อแยกส่วนของเนื้อผลกาแฟที่อยู่ชั้นนอกสุด (coffee pulp) ออก หลังจากนั้นกำจัดเปลือกหุ้มเมล็ดออกโดยการสีเปลือกเพื่อให้ได้เมล็ดกาแฟไปแปรรูปในกระบวนการคั่วเมล็ดกาแฟต่อไป จากกระบวนการแปรรูปข้างต้นส่วนใหญ่พบว่ามีวัสดุเหลือทิ้งในกระบวนการแปรรูปเมล็ดกาแฟ ได้แก่ เนื้อผลกาแฟ (coffee pulp) ประมาณ 55% ของผลกาแฟ และเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟ (hull and husk) 29% ของผลกาแฟ (ชุติมณฑน์ และคณะ, 2553) เมื่อความต้องการเมล็ดกาแฟเพิ่มขึ้น ส่วนที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการผลิต เช่น เนื้อผลกาแฟ (coffee pulp) จึงมีปริมาณเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งส่วนใหญ่วัสดุเหลือทิ้งเหล่านี้มักจะถูกปล่อยให้หมักเองตามธรรมชาติและนำไปทำปุ๋ยสำหรับต้นกาแฟในไร่ นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับสารประกอบต่างๆ ที่มีในเนื้อผลกาแฟ (coffee pulp) ดังนี้ คือ แทนนิน (ร้อยละ 1.80-5.56) กรดคลอโรจีนิค (ร้อยละ 2.6) สารกลุ่มเพคติค (ร้อยละ 6.5) น้ำตาลรีดิวส์/ไม่รีดิวส์ (ร้อยละ 12.4/2.0) คาเฟอีน (ร้อยละ 1.3) และกรดคาเฟอิคทั้งหมด (ร้อยละ 1.6) (Patricia & Victor 2012) และยังมีรายงานเพิ่มเติมว่ามีสารประกอบในกลุ่มฟีนอลและกลุ่มฟลาโวนอยด์อยู่สูง (Stephan J Sokollek *et al.,* 1998) นอกจากนี้ยังพบว่าเนื้อผลกาแฟ (coffee pulp) เป็นหนึ่งในแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ (Murthy and Naidu, 2010) และมีสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งเป็นสารสีแดง ที่มีมากในเนื้อผลกาแฟ (coffee pulp) อีกทั้งยังมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วย

น้ำส้มสายชู (vinegar) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการหมักและเป็นสารละลายที่มีกรดน้ำส้ม (acetic acid) เป็นองค์ประกอบหลัก (ปรีชา, 2538) กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเป็นการหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นกระบวนการหมักแบบไม่ใช้อากาศ โดยการใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และขั้นตอนที่สองเป็นการออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก โดยอาศัยแบคทีเรียกลุ่ม acetic acid bacteria ในสภาวะที่มีอากาศ (จุฑามาศ, 2551) หลังจากนั้นจึงนำไปกรองหรือนำไปกลั่นเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชู ปัจจุบันน้ำส้มชายชูหมักได้รับความนิยมในการบริโภค เนื่องจากมีประโยชน์ต่อร่างกายทำให้ระบบย่อยอาหารดีขึ้น การทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในร่างกาย ช่วยเร่งการเผาผลาญไขมัน บรรเทาอาการไขข้ออักเสบ ช่วยแก้ปัญหาการนอนไม่หลับ ช่วยรักษาโรคความดันโลหิตสูงและควบคุมระดับน้ำตาลใน

เลือด (Carol S. Johnston *et al.,* 2013) นอกจากนี้ยังมีการนำน้ำส้มสายชูหมักในการใช้เป็นเครื่องปรุงรสอาหารได้อีกด้วย

น้ำส้มสายชูบัลซามิก จัดเป็นเครื่องปรุงรสอาหารชนิดหนึ่งซึ่งผลิตได้จากวัตถุดิบธรรมชาติ และจากการสังเคราะห์ทางเคมี น้ำส้มสายชูบัลซามิกเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้มาหลังจากการหมักให้ได้น้ำส้มสายชูก่อนแล้วจึงนำไปบ่มในถังไม้โอ๊คต่อไป โดยใช้เวลานานอย่างน้อย 12 ปี (Giulia *et al*., 2015) จึงทำให้สีของน้ำส้มสายชูบัลซามิกเป็นสีดำ หรือน้ำตาลเข้ม และมีกลิ่นหอมของไม้ มีรสเปรี้ยวอมหวาน มีลักษณะเป็นสีดำข้นเหนียวไม่ใสเหมือนน้ำส้มสายชูชนิดอื่นๆ เนื่องจากการบ่มในถังไม้โอ้คเป็นเวลานาน จะช่วยทำให้น้ำค่อยๆระเหยออกไป ซึ่งการระเหยของน้ำจะเป็นไปอย่างช้าๆ ทำให้ผลิตภัณฑ์ข้น รสนุ่ม หอมอร่อย และมีราคาสูงมาก

การสกัดสารด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัดเป็นวิธีที่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงหรืออัลตราโซนิกส์ (Ultrasonic) ร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์หรือน้ำในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากวัตถุดิบ เครื่องมือชนิดนี้มีลักษณะเป็นแท่งทรงกระบอกมีขนาดความยาวและมีคลื่นความถี่ที่แตกต่างกันไป เครื่องมือดังกล่าวจะปล่อยคลื่นเสียงความถี่สูงออกมาในตัวพา (น้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์) กระบวนการดังกล่าวจะทำให้เกิดฟองก๊าซซึ่งเกิดการหดตัวและขยายตัวเป็นวัฏจักร เมื่อฟองก๊าซขยายตัวจะสามารถดึงสารที่อยู่ภายในวัสดุออกมาละลายในตัวทำละลาย และในขณะที่ฟองก๊าซแตกออกจะเกิดความดันและความร้อนอย่างมากในบริเวณนั้นซึ่งจะมีผลทำให้เนื้อเยื่อของวัสดุฉีกขาดด้วยอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้สารต้านอนุมูลอิสระที่ต้องการสกัดละลายในตัวทำละลายได้ดีขึ้น การสกัดด้วยวิธีนี้จะมีประสิทธิภาพดีหรือไม่ขึ้นกับปัจจัยหลายประการได้แก่ ความถี่ของคลื่นเสียงที่ใช้ ถ้าใช้ความถี่สูงจะใช้เวลาสั้นในการสกัด สมบัติที่แตกต่างกันของตัวทำละลาย ได้แก่ ความดันไอ ตัวทำละลายที่มีความดันไอสูงสามารถสกัดได้ดีกว่าตัวทำละลายที่มีความดันไอต่ำ อุณหภูมิที่ใช้ซึ่งการสกัดเกิดได้ดีเมื่อมีอุณหภูมิสูง และความเข้มของคลื่นเสียงที่ใช้ โดยทั่วไปวิธีนี้จะใช้สกัดสารกลุ่มเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary Metabolites) ของพืช วิธีนี้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพทำให้สกัดสารได้ปริมาณมาก (ดวงกมล, 2557) ดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์โดยใช้เทคนิคอัลตร้าโซนิกส์ในการสกัดเพื่อให้ได้สารสำคัญจากไม้โอ๊คเพิ่มมากขึ้นด้วยอัตราการสกัดที่เร็วขึ้นและเวลาที่ใช้การสกัดที่สั้นลง จึงเป็นทางเลือกใหม่ในการสกัดกลิ่นรสและสารสำคัญจากไม้โอ๊คสำหรับการพัฒนากระบวนการบ่มน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

เทคนิคการใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการระเหยสารตัวอย่างที่เป็นของเหลวโดยการกลั่น เพื่อเพิ่มอัตราการระเหยน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความข้นเหนียวและมีสีเข้มขึ้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดประยุกต์ใช้เทคนิคนี้ในการลดระยะเวลาในการระเหยน้ำของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการบ่มน้ำส้มสายชูบัลซิมิกซึ่งใช้เวลานานหลายปี (Giulia *et al*., 2015) สำหรับการพัฒนากระบวนการบ่มน้ำส้มสายชูบัลซิมิกจากเนื้อผลกาแฟด้วยเช่นกัน

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูให้เป็นน้ำส้มสายชูบัลซามิกโดยการพัฒนากรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟด้วยวิธีใหม่ โดยการประยุกต์ใช้อัลตร้าโซนิกส์และเทคนิคการระเหยแบบสุญญากาศ เพื่อให้ได้สารสำคัญเพิ่มมากขึ้นด้วยอัตราการบ่มที่เร็วขึ้นและเวลาที่ใช้การสกัดที่สั้นลง พร้อมทั้งศึกษาคุณสมบัติทางเคมี ทางกายภาพ ทางจุลชีววิทยา การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส คุณค่าทางโภชนาการ และทดสอบฤทธิ์ชีวภาพของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อพัฒนากระบวนการบ่มสำหรับการผลิตน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟโดยใช้เทคนิคอัลตร้าโซนิกส์ร่วมกับเทคนิคการใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ
2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมี ทางกายภาพ ทางจุลชีววิทยา วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ
3. เพื่อศึกษาจลนพลศาสตร์ และความคงตัวของน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

ขอบเขตของงานวิจัย

1. การเตรียมน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ : นำเนื้อผลกาแฟพันธุ์อาราบิกา (*Coffea Arabica* L.) มาล้างกำจัดสิ่งสกปรกด้วยน้ำสะอาดเพื่อมาใช้ในการผลิตไวน์ (เตรียมจากเนื้อผลกาแฟ น้ำตาลทรายขาว ยีสต์ผงสำเร็จรูป (*Saccharomyces cerevisiae*) โดยทำการหมักไวน์ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ (ประมาณ 1 สัปดาห์) จากนั้นกรองน้ำหมักและเติมแบคทีเรียกลุ่ม acetic acid bacteria เพื่อให้ได้น้ำส้มสายชูในสภาวะที่มีอากาศ จนได้น้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ ทำการตรวจวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณร้อยละของแอลกอฮอล์ ฯลฯ
2. การศึกษาการเพิ่มอัตราการระเหยน้ำออกจากผลิตภัณฑ์โดยใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ โดยการศึกษาระยะเวลาในการระเหยน้ำออกจากผลิตภัณฑ์จนได้น้ำหนักตามต้องการ (ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดที่ได้) ในการผลิตเป็นน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ
3. การศึกษาอัตราส่วนของผงไม้โอ๊คต่อปริมาณน้ำส้มสายชู ระยะเวลาในการสกัดสารโอ๊คแล็คโตน และตรวจวิเคราะห์สารดังกล่าวด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC)

4. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี ทางกายภาพ และทางจุลชีววิทยา ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ค่าสี และอื่นๆ ของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

5. การทดสอบฤทธิ์ชีวภาพของผลิตภัณฑ์โดยการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic compounds) และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH assay) ทำตามวิธีของ (บุหรัน, 2556) ของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

6. การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความชอบของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ โดยทำการพิจารณาในด้านสี กลิ่น รสชาติ ความใส (ไม่ตกตะกอน) และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ โดยสุ่มผู้ทดสอบจำนวน 60 คน ใช้ประเมินแบบให้คะแนนโดยวิธี 5 point hedonic scale ซึ่งมีการให้คะแนนต่ำสุด คือ 1 คะแนน และคะแนนสูงสุด คือ 5 คะแนน (1 คะแนน=ไม่ชอบมาก, 2 คะแนน=ไม่ชอบ, 3 คะแนน= เฉยๆ, 4 คะแนน=ชอบ, 5 คะแนน= ชอบมาก) และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์จากเนื้อผลกาแฟซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการแปรรูปกาแฟ

2. ได้องค์ความรู้ใหม่ซึ่งเป็นแนวทางในการศึกษาเทคนิคการลดระยะเวลาในการบ่มสำหรับกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟโดยการประยุกต์ใช้เทคนิคอัลตร้าโซนิกส์และเทคนิคการระเหยแบบสุญญากาศ

บทที่ 2
ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร

ลักษณะทั่วไปของกาแฟอาราบิก้า

ภาพที่ 1 ลักษณะของกาแฟอาราบิก้า
ที่มา : (NescafeDolceGustoThailand, 2017)

กาแฟอาราบิก้ามีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Coffea arabica* L. จัดอยู่ในวงศ์ Rubiaceae กาแฟเป็นผลผลิตทางการเกษตรที่มีการส่งออกมากเป็นอันดับหกของโลก กาแฟมีชื่อเรียกสามัญที่เรียกแตกต่างกันไป เช่น กาแฟ (ไทย) Kaffee/Rohkaffee (เยอรมัน) Coffee (อังกฤษ) และ Café (ฝรั่งเศสและสเปน)

คำศัพท์ Coffee ปรากฏในภาษาอังกฤษในค.ศ. 1598 โดยผ่านทางรากคำศัพท์ของภาษา Italian : *Caffé* ภาษา Turkish : kahve และจากภาษา Arabic : qahwa แปลว่า wine (ไวน์) ซึ่งปัจจุบันยังมีการนำผลกาแฟมาหมักเพื่อให้ได้เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในแถบเอธิโอเปีย (Ethiopia) และบางแห่งในอาระเบีย (Arabia) สำหรับการดื่มกาแฟนั้นก็มีประวัติต่างๆ กัน ทำให้หาต้นกำเนิดที่แท้จริงไม่ได้แต่สันนิษฐานกันว่าน่าจะเกิดในคาฟฟา (kaffa) ซึ่งอยู่ในเอธิโอเปียซึ่งเป็นถิ่นที่พืชชนิดนี้เกิดขึ้น แต่บางตำราอ้างว่ากาแฟมีต้นกำเนิดที่แอฟริกา (Africa) และถูกนำเข้ามายังอาระเบีย จากนั้นจึงแพร่หลายไปยังเอธิโอเปีย สำหรับการปลูกกาแฟนั้นพบว่าเริ่มมีการปลูกครั้งแรกในประเทศอาระเบีย และประเทศใกล้เคียงในช่วงต้นศตวรรษที่ 7

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

1. ราก

กาแฟมีรากแก้ว และมีรากแขนงแตกออกจากรากแก้ว ประมาณ 4 ถึง 8 ราก รากแขนงจะมีรากฝอย และจากรากฝอยจะมีรากแตกออกมาอีกเป็นรากสำหรับดูดอาหาร รากชนิดนี้มีจำนวนประมาณ 60 ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ จะแผ่กระจายในระดับผิวดินลึก ประมาณ 20 เซนติเมตร

2. ลำต้นและกิ่ง

ลำต้น (Main Stem) เป็นลำต้นเจริญเติบโตมาจากรากแก้ว มีลักษณะเป็นข้อและปล้อง ในขณะที่กาแฟต้นยังมีขนาดเล็กจะเห็นได้ชัด โดยใบจะอยู่ตามข้อของลำต้น เมื่อต้นโตขึ้นใบจะร่วงหล่นไป และโคนใบของกาแฟมีตา 2 ชนิด คือ ตาบนและตาล่าง ตาบนจะแตกกิ่งออกมาเป็นกิ่งแขนงที่ 1 (Primary Branch) เป็นกิ่งลักษณะเป็นกิ่งนอนขนานกับพื้นดินมีข้อและปล้อง แต่ละข้อของกิ่งแขนงนี้จะมีกลุ่มตาดอกที่จะติดดอกเป็นผลกาแฟต่อไป ส่วนตาล่างจะแตกออกเป็นกิ่งตั้ง (Sucker) กิ่งตั้งจะตั้งตรงขึ้นไปเหมือนลำต้น ไม่ติดดอกผล แต่สามารถสร้างกิ่งแขนงที่สามารถให้ดอกผล เรียกเป็นกิ่งแขนงที่ 1 เช่นกัน กิ่งแขนงที่ 1 สามารถแตกกิ่งแขนงต่อไปได้อีกเป็นกิ่งแขนงที่ 2 และกิ่งแขนงที่ 2 สามารถแตกเป็นกิ่งแขนงที่ 3 ได้อีก กิ่งแขนงเหล่านี้จะเกิดในลักษณะเป็นคู่สลับเยื้องกันบนลำต้นหรือกิ่งตั้ง เมื่อมีการตัดลำต้นกาแฟ ตาล่างบนลำต้นจะแตกกิ่งตั้งขึ้นมา กิ่งตั้งจะแตกเป็นกิ่งแขนงที่ 1 กิ่งที่ 2 และ 3 จากนั้นมีการสร้างดอกและผลกาแฟอีกต่อไป

3. ใบ

ลักษณะเป็นใบเดี่ยว ก้านใบสั้น โคนใบและปลายใบเรียวแหลม ตรงกลางใบกว้าง ผิวใบเรียบ นุ่มเป็นมัน ขอบใบหยักเป็นคลื่น ขนาดของใบขึ้นกับพันธุ์กาแฟ ใบจะเกิดที่ข้อเป็นคู่ตรงข้ามกัน ส่วนปากใบอยู่ด้านท้องใบ แต่ละใบจะมีปากใบประมาณ 3 ล้านถึง 6 ล้านรู ปากใบของกาแฟอาราบิก้ามีขนาดใหญ่กว่าปากใบของกาแฟอาโรบัสต้าแต่มีจำนวนมากกว่า อายุใบประมาณ 250 วัน

4. ช่อดอกและดอก

ปกติดอกกาแฟจะมีลักษณะเป็นดอกเดี่ยวสมบูรณ์เพศ มีกลีบดอก จำนวน 4 ถึง 9 กลีบ กลีบเลี้ยง จำนวน 4 ถึง 5 ใบ มีเกสร 5 อัน รังไข่ 2 ห้อง แต่ละห้องของรังไข่จะมีไข่ 1 ใบ ผลกาแฟจึงมี 2 เมล็ด ดอกกาแฟจะออกเป็นกลุ่มๆ บริเวณโคนใบบน ข้อของกิ่งแขนงที่ 1 แขนงที่ 2 หรือ 3 กลุ่มดอกแต่ละข้อมีดอก จำนวน 2 ถึง 20 ดอก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของต้นตา ดอกจะออกจากกิ่งแขนงจากข้อที่อยู่ใกล้ลำต้นออกไปหาปลายกิ่งแขนง ปกติกาแฟจะออกดอกตามข้อของกิ่ง ข้อที่ออกดอกผลแล้วในปีต่อไปจะไม่ออกดอกและให้ผลอีก

5. ผลและเมล็ด

ผลของกาแฟมีลักษณะคล้ายลูกหว้า รูปรี ก้านผลสั้น ผลดิบสีเขียว เมื่อเวลาผลสุกจะมีสีเหลือง สีส้ม สีแดง ผลของกาแฟจะแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ 1. เปลือก (Skin) 2. เนื้อ (Pulp) มีสีเหลือง เมื่อสุกมีรสหวาน 3. กะลา (Parchment) จะห่อหุ้มเมล็ด ช่วงระหว่างเมล็ดกับกะลาจะมีเยื่อบางๆ หุ้มเมล็ดอยู่เรียกว่า เยื่อหุ้มเมล็ด (Silver Skin) ผลกาแฟแต่ละผลจะมี 2 เมล็ดประกบกัน ด้านที่ประกบกันจะอยู่ด้านในมีลักษณะแบน มีร่องบริเวณกลางเมล็ด 1 ร่อง ส่วนด้านนอกมีลักษณะโค้ง ลักษณะเมล็ดจะเป็นเดี่ยวหรือเมล็ดโทน (Pea Bean, Pea Berry) ในบางครั้งหากการผสมเกสรไม่สมบูรณ์ จะทำให้ผลติดเมล็ดเพียงเมล็ดเดียว ผลกาแฟมีเมล็ดเพียงเมล็ดเดียวรูปร่างกลมรีทั้งเมล็ด โดยมีร่องบริเวณกลางเม็ด 1 ร่อง (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน), 2560)

สารสำคัญที่พบในกาแฟ

กาแฟสดมีส่วนประกอบหลักๆ ได้แก่ เนื้อผลกาแฟ (coffee pulp) คือ ประมาณร้อยละ 55 ของผลสด (coffee cherry) และเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟ (hull and husk) ประมาณร้อยละ 29 ของผลสด (Andersson *et al.,* 2003) ซึ่งโดยทั่วไปส่วนเนื้อผลกาแฟนี้จะถูกนำไปหมักจนเป็นสีดำก่อนที่จะทำเป็นปุ๋ยต่อไป มีนักวิจัยบางกลุ่มศึกษาร่วมกับกลุ่มเกษตรกรดอยช้าง ถึงการใช้ประโยชน์จากเนื้อผลกาแฟ เช่น การผลิตไวน์ หรือเครื่องดื่มจากเนื้อผลกาแฟ แต่ไม่เป็นที่แพร่หลายและนิยมมากนัก กลุ่มเกษตรกรจึงมักจะทิ้งให้เนื้อผลกาแฟหมักเองตามธรรมชาติ และนำไปทำเป็นปุ๋ยสำหรับต้นกาแฟในไร่ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า ปุ๋ยที่ได้จากการหมักเนื้อผลกาแฟให้ผลได้ไม่ดีเท่าที่ควร เนื่องจากในเนื้อผลกาแฟมีสารประกอบบางชนิด เช่น สารประกอบ ฟีนอล คาเฟอีน และสารแทนนินอยู่ (Ramirez-Martinez, 2006) ซึ่งจะไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ช่วยในการหมักปุ๋ย มีรายงานว่าเนื้อผลกาแฟเป็นหนึ่งในแหล่งของสารต้านออกซิเดชั่นที่สำคัญ (Murthy and Naidu, 2010) เนื้อผลกาแฟมีสารประกอบฟีนอลเป็นองค์ประกอบในรูปของกรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) และสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์อยู่สูง (Spiller, 1998) โดยพบว่า สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเนื้อผลกาแฟ มีกรดคลอโรจีนิก และอิพิแคธิชิน (epicatechin) อยู่สูงถึง 42.2 และ 21.6 % ตามลำดับ (Ramirez-Martinez, 2006) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าแอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นสารสีชนิดหนึ่งที่มีมากในเนื้อผลกาแฟ ที่มีสมบัติดังกล่าวด้วยเช่นกัน (Pinelo *et al.,* 2007)

น้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชูมาจากภาษาฝรั่งเศสว่า Vinaigre แปลว่า ไวน์ที่มีรสเปรี้ยวมาก (Vin = Wine aigre = รสเปรี้ยว) ดังนั้นน้ำส้มสายชู จึงมีความหมายว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำให้เกิดกรดน้ำส้ม (Acetification) ของวัตถุดิบพวกน้ำตาลหรือแป้งที่ผ่านกระบวนการหมักแอลกอฮอล์มาแล้ว (วราวุฒิ, 2538)

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูนั้นมีหลายอย่างเช่น การผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์ การผลิตน้ำส้มสายชูจากผลไม้ต่างๆ การผลิตน้ำส้มสายชูจากข้าวมอลต์ การผลิตน้ำส้มสายชูจากแอลกอฮอล์ (Lipp *et al.*, 1998) การผลิตน้ำส้มสายชูจากมันเทศ การผลิตน้ำส้มสายชูจากข้าว-โชชุ (Ye Xiu *et al.,* 2004) ซึ่งตามมาตรฐานของสำนักงานอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา ได้แบ่งชนิดของน้ำส้มสายชูออกเป็นชนิดต่างๆ ดังนี้

Cider vinegar และ Apple vinegar เป็นน้ำส้มสายชูหมักที่ได้จากแอปเปิ้ลเป็นวัตถุดิบและมีกรดน้ำส้ม ไม่น้อยกว่า 4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 30 องศาเซลเซียส

Wine vinegar และ Grape vinegar เป็นน้ำส้มสายชู ได้จากองุ่นเป็นวัตถุดิบมีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 30 องศาเซลเซียส

Malt vinegar เป็นน้ำส้มสายชูที่ได้จากข้าวมอลท์หรือข้าวอื่นๆที่ถูกย่อยโดยข้าวมอลต์ เป็นวัตถุดิบและมีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 30 องศาเซลเซียส

Sugar vinegar เป็นน้ำส้มสายชูที่ได้จากน้ำตาล กากน้ำตาล มีกรดน้ำส้มสายชูไม่น้อยกว่า 4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 30 องศาเซลเซียส

Glucose vinegar คือน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักสารละลายกลูโคสมีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 30 องศาเซลเซียส

Spirit vinegar distilled vinegar และ Grain vinegar คือน้ำส้มสายชูที่ได้จากแอลกอฮอล์กลั่นและมีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 30 องศาเซลเซียส (วราวุฒิ, 2538)

สำหรับประเทศไทยได้มีมาตรฐานของน้ำส้มสายชูกำหนดโดยกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ.2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู ไว้ดังนี้คือ

ข้อที่ 1 น้ำส้มสายชูแบ่งออกเป็น

1.1 น้ำส้มสายชูหมักได้แก่ผลิตผลที่ได้จากธัญพืช ผลไม้ หรือน้ำตาล แล้วหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีธรรมชาติ

1.2 น้ำส้มสายชูกลั่น ได้แก่การทำสุราขาวเจือจาง หรือแอลกอฮอล์เจือจาง หมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีธรรมชาติ หรือได้มาจากการกลั่นน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น

1.3. น้ำส้มสายชูเทียม ได้แก่การเอากรดอะซิติกมาเจือจางกับน้ำ

ข้อที่ 2 สำหรับคุณภาพและมาตรฐานของน้ำส้มสายชูหมักและน้ำส้มสายชูกลั่นมีดังนี้คือ

2.1 ต้องมีกรดอะซิติกไม่น้อยกว่า 4 กรัมต่อ100 มิลลิลิตร

2.2 ต้องไม่มีกรดน้ำส้ม (Acetic acid) ที่ไม่ได้มาจากการผลิตน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่นตามกรรมวิธีธรรมชาติ

2.3 ต้องไม่มีการเจือจางกรดซัลฟูริก หรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น

2.4 ต้องไม่มีตะกอนเว้นไว้แต่ตะกอนอันเกิดขึ้นตามธรรมชาติจากกรรมวิธีที่ผลิต

2.5 ต้องไม่มีหนอนน้ำส้ม (Vinegar eel)

ข้อ 3 การแต่งสีน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น ให้ใช้สีน้ำตาลไหม้(Caramel)

ข้อ 4 สำหรับน้ำส้มสายชูเทียมต้องมีคุณภาพและมาตรฐานดังนี้

4.1 ต้องมีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัมและไม่เกิน 7 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

4.2 ต้องไม่มีกรดซัลฟูริกหรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น

4.3 ต้องไม่มีตะกอน

4.4. ไม่มีการเจือจางสีชนิดใดๆ

ข้อ 5 น้ำส้มสายชูหมัก น้ำส้มสายชูกลั่นและน้ำส้มสายชูเทียมที่ผลิตและจำหน่ายต้องมีฉลากและในการแสดงฉลากนั้น อย่างน้อยต้องมีข้อความเป็นอักษรหรือภาษาไทยเห็นได้ชัดเจน (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2560a)

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชูส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่มของ *Acetobacter* sp. และ *Gluconobacter* sp. เนื่องจากสามารถออกซิไดซ์เอทานอลให้เป็นกรดอะซิติกได้โดยภายใต้สภาวะที่มีอากาศ (Qi *Z et al.,* 2017) ดังจะเห็นได้จากตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตกรดน้ำส้มสายชูที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู

เชื้อแบคทีเรีย	ที่มา
Acetobacter aceti	(de Ory *et al.*, 2004)
Acetobacter rancens	(Akira Nanba *et al.*, 1985)
Acetobacter europaeus , *Acetobacter xylinum*	(Sokollek *et al.,* 1998)
Acetobacter diazotrophicus , *Acetobacter hansenii*	
Acetobacter liquefaciens	
Acetobacter pasteurianus , *Acetobacter peroxydans*	(วราวุฒิ, 2538)
Gluconobacter sp.	(สุมณฑา, 2545)

ขั้นตอนการผลิตน้ำส้มสายชู

ในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูนั้นจะแบ่งขั้นตอนการหมักออกเป็น 2 ขั้นตอน คือขั้นตอนแรกเป็นการหมักน้ำตาลให้กลายเป็นเอทธิลแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยการทำงานของยีสต์ ขั้นที่สอง คือการออกซิไดซ์พวกแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดน้ำส้ม โดยการทำงานของพวกแบคทีเรียที่ผลิตกรดน้ำส้ม ปฏิกิริยาทางด้านเคมีเขียนได้ดังนี้ (Solieri and Giudici, 2008)

$$\underset{\text{น้ำตาล}}{C_2H_{12}O_6} \xrightarrow[\text{ยีสต์}]{} \underset{\text{เอทธิลแอลกอฮอล์}}{2C_2H_6OH} + \underset{\text{คาร์บอนไดออกไซด์}}{2CO_2}$$

$$\underset{\text{เอทธิลแอลกอฮอล์}}{C_2H_6OH} \xrightarrow[\text{แบคทีเรีย (Acetobacter)}]{} \underset{\text{กรดน้ำส้มสายชู}}{CH_3COOH} + \underset{\text{น้ำ}}{H_2O}$$

น้ำส้มสายชูบัลซามิก

น้ำส้มสายชูบาลซามิก (Balsamic Vinegar) มีสีน้ำตาลเข้มจนเกือบดำ ทำมาจากน้ำองุ่นพันธุ์ Trebbiano หรือไวน์ Lambrusco ของแท้ดั้งเดิมมาจากเมืองโมดินาทางภาคเหนือของอิตาลี

วิธีการทำบัลซามิกต้องนำน้ำองุ่นมาต้มให้งวด ก่อนนำไปหมักในถังไม้ ซึ่งเป็นหัวใจการทำ **“บัลซามิก”**เพราะยิ่งบ่มนาน จะทำให้รสนุ่ม หอมอร่อย และราคาแพงขึ้น ใช้เวลาหมักนาน 12 ปี 18 ปี และ 25 ปี หรือนานกว่านั้น ซึ่งในหนังสือบางเล่มบอกว่า 80-100 ปีก็ยังมี ราคาก็จะแพงขึ้นเรื่อยๆ

ถังไม้ที่ใช้หมักจะทำมาจากต้นไม้ชนิดต่างๆ เช่น เชสนัต เชอร์รีโอค มัลเบอร์รี โดยจะให้กลิ่นรส ที่แตกต่างกันไป ถังที่ใช้หมักจะใบเล็กและวางซ้อนกัน เมื่อถึงฤดูร้อน น้ำส้มสายชูก็จะค่อยๆ ระเหยไปตามธรรมชาติ พอถึงฤดูหนาวก็จะบ่มหมักอยู่ในถัง นานปีเข้าก็จะค่อยๆ งวดลงกลายเป็น **น้ำส้มสายชู**สีดำ มีรสเปรี้ยวอมหวาน กลิ่นหอม ซึ่งผู้ผลิตก็จะต้องชิมว่าใช้ได้หรือยัง หากบ่มนาน 12 ปี จะเรียกว่า Affinato ฉลากที่ปิดบนขวดจะเป็นสีแดง หากบ่มนาน 18 ปี ฉลากจะเป็นสีเงิน และบ่มนาน 25 ปีจะเรียกว่า Extravecchino ฉลากเป็นสีทอง บรรจุอยู่ในขวดกลม คอขวดสูง เชฟสวยตกแต่งอย่างสวยงาม ปิดด้วยจุกก็อกหรือใช้ครั่งทับอีกที เพื่อให้ดูขลังและน่าซื้อมากขึ้น

บัลซามิกของแท้ ที่บ่มมาอย่างยาวนาน จะมีสีน้ำตาลเข้มจนเกือบดำ เนื้อเหนียวหนืดคล้ายน้ำเชื่อมไซรัป เป็นมันวาว พอเหยาะออกจากขวดจะต้องได้กลิ่นหอมละมุม รสหวานอมเปรี้ยว

การซื้อบัลซามิกของแท้ไม่ยุ่งยาก เพราะจะบรรจุในขวดอย่างดี มีฉลากชัดเจน อาจจะใส่กล่องมาอีกที ราคาเริ่มต้นประมาณ 1,600 – 2,000 บาท ราคาจะสูงขึ้นเรื่อยๆ ตามปีที่บ่ม และบนฉลากจะต้องเขียนไว้ว่า Aceto Balsamico Di Modena แต่ปัจจุบันอาจเห็นน้ำส้มสายชูบัลซามิก ในขวดสี่เหลี่ยมหรือกลม วางขายอยู่ในซูเปอร์มาร์เก็ตทั่วไป จะเรียกว่าของปลอมก็ไม่เชิงนัก แต่จะเรียกว่าเป็นการผลิตในเชิงอุตสาหกรรมก็ได้ สิ่งที่เหมือนของแท้อยู่อย่างเดียวคือสี จะมีสีดำ เนื้อสัมผัสใส พอเปิดขวดก็จะได้กลิ่นเปรี้ยวแรงแตะจมูก วิธีรับประทานโดยทั่วไปก็จะนำมาผสมน้ำตาลเล็กน้อย เพื่อให้รสกลมกล่อมขึ้น ผสมกับน้ำมันมะกอก แล้วราดบนสลัด

บัลซามิกของแท้ต้องข้น เหนียวหนืบ มันวาว กลิ่นหอมซับซ้อน รสหวานอมเปรี้ยว ไม่ต้องปรุงอะไรเพิ่ม เพียงหยดบางๆ ก็จะได้รสอร่อยวิเศษของน้ำส้มสายชูบัลซามิกแล้ว (เกษตรโมเดิล, 2560)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)

Reactive oxygen species (ROS) เป็นกลุ่มสารที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี ทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) กับโมเลกุลต่างๆ ภายในเซลล์ร่างกาย ROS หมายความรวมถึงสารประกอบเพอร์ออกไซด์ (Peroxides) เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) และสารอนุมูลอิสระ (Free radicals) ซึ่งเป็นโมเลกุลหรืออิออนที่มีอิเลคตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอก ซึ่งชนิดที่สำคัญ ได้แก่ อนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์แอนอิออน (Superoxide anion) และอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (Hydroxyl radical) เมื่อมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจะเกิดการทำลายโมเลกุลอื่นๆ ต่อเนื่องกันเป็นลูกโซ่ส่งผลให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อร่างกายเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหัวใจขาดเลือด ต้อกระจก ความดันโลหิตสูง อัลไซเมอร์ เบาหวาน มะเร็ง เป็นต้น ปกติภายในร่างกายของเรามีกลไกป้องกันการโจมตีจากอนุมูลอิสระโดยอาศัยการทำงานของสารหรือเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นในร่างกาย เช่น เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (Superoxide dismutase) คะตาเลส (Catalase) กลูตาไทโอนเพอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase) เป็นต้น แต่การทำหน้าที่ของสารหรือเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระนั้นยังไม่เพียงพอและมีขีดจำกัด ประกอบกับเมื่ออายุมากขึ้นร่างกายสร้างสารหรือเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระได้น้อยลง ดังนั้นร่างกายจึงควรรับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกด้วยเช่นกัน ในปัจจุบันผู้รักสุขภาพจำนวนมากนิยมบริโภคสารต้านอนุมูลอิสระทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมประเภทสารต้านอนุมูลอิสระมีหลากหลายและเป็นที่ต้องการของตลาด สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนติออกซิแดนท์ (Antioxidants) ที่เรารู้จักกันดี ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี วิตามินเอ ลูทีน (Lutein) และพฤกษเคมีต่างๆ (Phytochemical) เช่น โพลีฟีนอล (Polyphenols) ไอโซฟลาโวน Isoflavone) เบต้าแคโรทีน (λ-carotene) คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) เป็นต้น สามารถพบสารเหล่านี้ได้จากพืช ผัก และผลไม้ที่มีอยู่ตามธรรมชาติหรืออาจพบได้ในสาหร่ายและยีสต์ เช่น สารแอสตาแซนธิน แต่การที่จะรับประทานพืชหรือผักเหล่านี้ในปริมาณมากคงเป็นไปได้ยากจึงต้องทำการสกัดหรือดึงสารเหล่านี้ออกมาทำให้เข้มข้นและอยู่ในรูปแบบที่รับประทานได้ง่าย เช่น แคปซูล หรือเม็ด (ดวงกมล, 2557)

สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้าง ทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิกไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้าง เป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์สารประกอบฟีนอล ที่พบในพืช มักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ น้ำตาลชนิดที่พบ มากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือจะเป็นสารประกอบฟีนอลกับสารสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ และเทอร์พีนอยด์ เป็นต้น

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity determination)

วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสมารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ ในแต่ละประเภทจะมีหลายวิธีด้วยกัน ซึ่งแต่ละวิธีมีความจำเพาะแตกต่างกัน โดยปกติมักใช้หลายวิธีร่วมกันในการตรวจสอบและสรุปผล

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่าง ๆ วิธีที่นิยมได้แก่ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH•), วิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS•+) และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ซึ่งวิธีการดังกล่าวจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือจากค่าการดูดกลืนแสง (บุหรัน, 2556)

1. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (diphenylpicryhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay) เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระในที่นี้ก็คืออนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH•, diphenyl-picryhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดโดยใช้เครื่องสเปกโตโฟโตรมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่อ DPPH• ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะทำให้สีม่วงจางลง ๆจนเป็นสีเหลือง ซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถหาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลง สูตรคำนวณได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงจากการใส่ตัวอย่างเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น (ก่อนใส่สารตัวอย่าง) ดังนี้

$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = [(A_0-A_s)/A_0] \times 100 \quad \ldots (2.1)$$

เมื่อ A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น

A_s = ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมสารตัวอย่าง

2. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS radicalcation decolorization assay) เป็นวิธีการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส เป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงินสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เนื่องจากสีของ ABTS ปกติจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูง จึงต้องทำการเจือจางABTS ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากนั้นนำ ABTS ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ละลายด้วยเอทานอลเจือจางซึ่งจะทำให้สีจางลง และตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา จึงสามารถหาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS (บุหรัน, 2556)

3. การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay) วิธีการนี้อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$ ซึ่ง $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$ มีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593นาโนเมตร ปริมาณของ $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$ ที่เกิดขึ้นสามารถประมาณความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในรูป FRAP value เทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$) ซึ่งขั้นตอนโดยละเอียดของวิธีการนี้ ได้แก่ การทำ ให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$ประกอบด้วยนำสารละลาย TPTZ (2,4,6-tri (2-pyridyl)-striazine) ที่ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจางมาทำปฏิกิริยากับสารละลายอะซิเทตบัฟเฟอร์ และสารละลายเฟอริกไตรคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต จากนั้นทำการรีดิวซ์เฟอร์ริกโดยการเติมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตหรือสารตัวอย่าง (สารต้านอนุมูลอิสระ) และตั้งทิ้งไว้ในที่มืด (บุหรัน, 2556)

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometry)

การหาปริมาณสารใดสารหนึ่งโดยวิธีการทางห้องปฏิบัติการมีอยู่หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้มากคือการวัดความเข้มของสี (colorimetry) หรือการวัดความเข้มของแสง เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกในการวิเคราะห์ โดยจะทำการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน (standard solution) ที่ทราบค่า ในระยะแรก ๆ การเปรียบเทียบความเข้มของสีจะอาศัยสายตา (visual colorimetry) ซึ่งมีความถูกต้องและแม่นยำต่ำ ต่อมาได้มีการนำตัวไวแสง(photo sensor) มาใช้แทนการเปรียบเทียบด้วยสายตา จึงเรียกเครื่องมือที่ใช้ตัวไวแสงว่า “photoelectric colorimeter” หรือ “photometer” เนื่องจากสารหรือสีที่จะวัดมีความสามารถในการดูดกลืนแสง หรือ ปล่อยแสงที่มีช่วงความยาวคลื่น (spectrum) ที่แตกต่างกัน ดังนั้น เพื่อให้การวัดมีความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) สูง จึงได้พัฒนาเครื่องมือที่สามารถวัดความเข้มของแสงช่วงความยาวคลื่นแคบๆ ได้อย่างต่อเนื่องตามต้องการ และใช้ตัวไวแสงที่มีประสิทธิภาพสูง เครื่องมือดังกล่าวถูกเรียกว่า

“สเปกโทรโฟโตมิเตอร์” (spectrophotometer) ซึ่งในปัจจุบันได้มีการพัฒนาไปมาก มีทั้งแบบอะนาล็อก แบบดิจิตอล รวมทั้งแบบดิจิตอลที่ทำงานโดยอัตโนมัติที่มีระบบไมโครโพรเซสเซอร์ควบคุมการทำงาน

1. ส่วนประกอบหลักของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ จะมีอยู่ 5 ส่วน ดังนี้

1.1 **แหล่งกำเนิดแสง (light source)** แหล่งกำเนิดแสงในเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะต้องให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการอย่างต่อเนื่องและคงที่ตลอดเวลา รวมทั้งต้องมีความเข้มแสงที่มากพอด้วย

1.2 **ส่วนเลือกความยาวคลื่น (wavelength selector)** เป็นส่วนที่ใช้แยกความยาวคลื่นที่ออกมาจากแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งเป็นแสงที่มีหลายๆความยาวคลื่น (polychromatic wavelength) ให้เป็นแถบแสงในช่วงแคบๆ หรือเป็นความยาวคลื่นเดี่ยว (monochromatic wavelength) เครื่องมือสมัยก่อนจะใช้ปริซึม หรือฟิลเตอร์สำหรับแยกความยาวคลื่น แต่ปัจจุบันเปลี่ยนมาใช้โมโนโครเมเตอร์ (monochromater) แบบเกรตติ้ง (grating) สะท้อนแสงซึ่งมีลักษณะเป็นร่องเล็กๆ ขนานกันจำนวนมาก แสงจากแหล่งกำเนิดแสงจะตกกระทบลงบนผิวหน้าของร่อง แล้วสะท้อนออกมาที่มุมต่างๆ เฉพาะความยาวคลื่นที่เราเลือกเท่านั้นจึงจะผ่านช่องแสงออก (exit slit) ไปสู่สารตัวอย่าง

1.3 ภาชนะใส่สารตัวอย่าง (cell หรือ cuvette) ภาชนะใส่สารตัวอย่างสำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ จะเรียกว่าเซลล์ หรือคิวเวทท์ มีหลายแบบหลายขนาดด้วยกันขึ้นกับการใช้งาน หลักสำคัญในการเลือกใช้ก็คือ การวัดในช่วงแสงอัลตราไวโอเลตจะต้องใช้เซลล์ที่ทำจากควอตซ์ (quartz) เท่านั้น เนื่องจากแก้วสามารถดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตได้ ส่วนเซลล์ที่ทำจากแก้วจะใช้วัดในช่วงแสงที่มองเห็นได้ นั่นหมายความว่าถ้าเราต้องการวัดสารในช่วงแสงที่มองเห็นได้ก็ควรจะใช้เซลล์ที่ทำจากแก้ว การใช้เซลล์ควอตซ์ไม่ได้มีผลให้การวัดแสงดีขึ้น แต่จะสิ้นเปลืองเปล่าประโยชน์เพราะควอตซ์ราคาแพงกว่าแก้วมาก

1.4 ตัวตรวจจับสัญญาณ (detector) เครื่องตรวจจับสัญญาณที่ดีต้องมีสภาพไวสูง คือแม้ปริมาณแสงจะเปลี่ยนไปเล็กน้อย ก็สามารถตรวจจับสัญญาณความแตกต่างได้ ปัจจุบันเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ส่วนใหญ่ นิยมใช้ตัวตรวจจับสัญญาณ 2 ชนิดคือ

1.4.1 หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tube; PMT) หลอด PMT ประกอบไปด้วยแคโทด (cathode) ที่ฉาบผิวด้วยสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้เมื่อถูกแสงจำนวน 9 ชุด เรียกว่า ไดโนด (dynode) แต่ละไดโนดจะมีศักย์ไฟฟ้าสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อแสงตกกระทบกับไดโนดตัวที่ 1 สารที่ฉาบจะเกิดอิเล็กตรอนขึ้น แล้ววิ่งไปกระทบไดโนดที่ 2, 3, 4 จนครบทั้ง 9 ตัว ดังนั้นปริมาณอิเล็กตรอนจะเพิ่มขึ้นถึง 10^6-10^7 เท่า แล้วจึงชนแอโนดให้กระแสไฟฟ้าออกมาเข้าเครื่องขยายสัญญาณต่อไป

1.4.2 โฟโตไดโอดอาร์เรย์ (photodiode arrays; PDA) ตัวตรวจจับสัญญาณชนิดนี้สามารถจับสัญญาณได้ครอบคลุมทั้งสเปกตรัมโดยใช้ไดโอดนี้ มาเรียงต่อกันเป็นแถว ซึ่งสามารถวัดครอบคลุมสเปกตรัมได้ตั้งแต่ 200 -1100 nm ตัวตรวจจับสัญญาณนี้ประกอบไปด้วยโฟโตไดโอดและตัวเก็บประจุ (capacitor) ประมาณ 200 - 4000 ตัวเรียงต่อกันเป็นแถว หลักการเริ่มต้นด้วยการให้ประจุผ่านผิวหน้าไดโอด ซึ่งไดโอดก็จะเก็บประจุไว้ที่ตัวเก็บประจุ เมื่อแสงตกลงบนไดโอดจะทำให้เกิดประจุไฟฟ้าไปทำลายประจุที่เก็บไว้ที่ตัวเก็บประจุ ทำให้ต้องใส่ประจุเพิ่มเข้าไปใหม่ซึ่งเป็นช่วงของการสแกนแต่ละครั้งนั่นเอง ปริมาณของประจุที่ต้องใส่เข้าไปใหม่ จะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มแสงที่วัดได้ของแต่ละไดโอด ดังนั้นจากการวัดปริมาณแสงที่แตกต่างกันตลอดช่วงความยาวคลื่นจะได้เป็นสเปกตรัมการดูดกลืนของสารนั้นออกมา

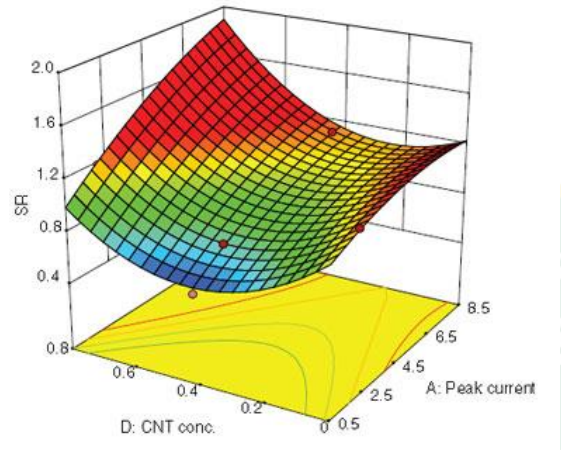
1.5 **ส่วนบันทึกและแปรผลสัญญาณ (recorder and processor)** ทำหน้าที่ขยายสัญญาณ และแปรผลสัญญาณให้ออกมาในมาตราส่วนแบบล็อก (log scale) (สถาบันนวัตกรรมและพัฒนากระบวนการเรียนรู้, 2560)

ตารางที่ 2 ความเข้มสีของสารละลายแต่ละความยาวคลื่น

ความยาวคลื่นที่ดูดกลืน (นาโนเมตร)	สีของตัวกรองแสง	สีของสารละลาย
380-435	ม่วง	เขียวเหลือง
435-480	น้ำเงิน	เหลือง
480-490	น้ำเงินเขียว	ส้ม
490-500	เขียวน้ำเงิน	แดง
500-560	เขียว	ม่วง
560-580	เขียวเหลือง	ม่วง
580-595	เหลือง	น้ำเงิน
595-650	ส้ม	น้ำเงินเขียว
650-780	แดง	เขียวน้ำเงิน

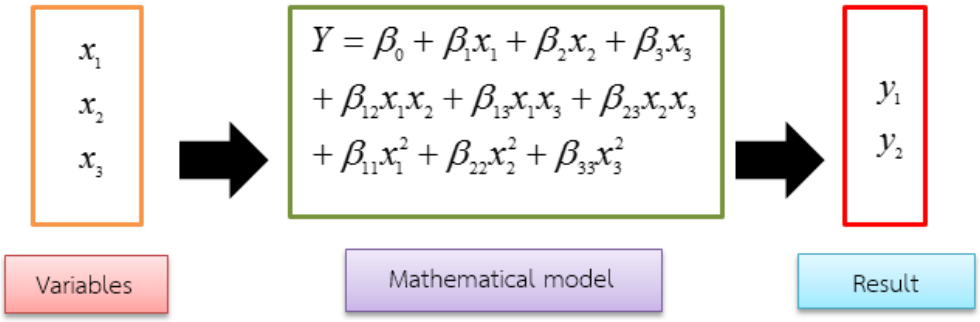
วิธีการพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology; RSM)

วิธีการพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology; RSM) เป็นวิธีการทางคณิตศาสตร์และสถิติที่นำมาใช้ในการสร้างแบบจำลอง และวิเคราะห์ปัญหาที่เกิดจากความสัมพันธ์ของตัวแปรหลายตัวแปร เพื่อหาค่าที่ดีที่สุดของความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร ซึ่งจะแสดงความสัมพันธ์ของตัวแปรในรูปกราฟิกสามมิติ ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 กราฟิก 3 มิติ พื้นที่ผิวตอบสนอง
ที่มา : http://www.aspbs.com/jnan/jnanv5n2.htm

การออกแบบพื้นที่การตอบสนองเป็นเทคนิคหนึ่งที่นับว่ามีประโยชน์อย่างมากต่อการวิจัยเป็นวิธีการที่สามารถประยุกต์ได้กับการพัฒนาทั้งการทดลอง และกระบวนการที่ต้องการพัฒนาและสามารถหาจุดเหมาะสมจากข้อมูลที่ได้จากการทดลองในรูปแบบการวางแผนการทดลองต่างๆ ทำให้นักวิจัยสามารถตัดสินใจจุดที่เหมาะสมเพื่อใช้เป็นแนวทางในการปฏิบัติการทำการทดลอง รวมทั้งใช้เป็นแนวทางในการปรับสูตร และกระบวนการผลิต วิธีการของพื้นที่การตอบสนองประกอบด้วยกลุ่มของเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาจากค่าสังเกตเพื่อกำหนดความสัมพันธ์ระหว่างค่าการตอบสนอง (Response variable) ที่วัดได้ เช่น ปริมาณสารเบนซีน สารฟูรานิก สารโอ๊กแล็กโตน และสารต้านอนุมูลอิสระ กับตัวแปรที่ใช้ในการทดลอง (Input variables) เช่น เวลา อัตราส่วนระหว่างตัวละลายกับตัวทำละลาย และความเข้มข้นของตัวทำละลาย



ภาพที่ 3 Mathematical model

1. สมการที่ใช้ในวิธีพื้นผิวตอบสนอง

$$Y = f(X_1, X_2, \ldots, X_n) + \varepsilon \qquad \ldots (2.2)$$

เมื่อ Y = ค่าตอบสนองที่สังเกตได้ ซึ่งมักรู้จักกันในชื่อ Dependent variable

f = ฟังก์ชั่นของการตอบสนองของ $X_1, X_2, \ldots, X_n$ ซึ่งเป็นตัวแปรเชิงปริมาณ ซึ่งมักรู้จักกันในชื่อ Independent variable

ε = เทอมของความคลาดเคลื่อนสุ่ม

ความสัมพันธ์ของสมการถดถอยเชิงเส้นตรง (Linear regression relationship) เป็นดังนี้

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \ldots + \beta_n X_n + \varepsilon \qquad \ldots (2.3)$$

ซึ่งสมการดังกล่าวเป็นสมการพื้นฐานง่ายสุด ที่มักรู้จักกันว่าเป็นรูปแบบหรือสมการลำดับที่หนึ่ง (First-order model or equation) ส่วนรูปแบบลำดับที่สอง (Second-order model) เป็นความสัมพันธ์ของสมการถดถอยเชิงเส้นโค้ง (Quadratic regression relationship) เขียนอยู่ในรูปของสมการที่ 2.4

$$Y = \beta 0 + \beta_1 X_1 + \ldots + \beta_n X_n + \beta_{11} X_1^2 + \ldots + \beta_{nn} X_n^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \ldots + \beta_{n-1,n} X_{n-1} X_n + \varepsilon \quad \ldots (2.4)$$

พารามิเตอร์ของสมการนี้โดยทั่วไปมักไม่ทราบ ดังนั้นจะต้องถูกประมาณจากผลการทดลอง ความหมายในเชิงกายภาพของพารามิเตอร์ดังกล่าวเป็นดังนี้

β_0 = จุดตัด (Intercept) หรือ Grand mean

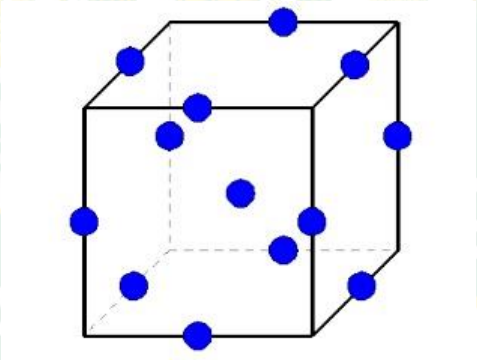
β_i = เป็นผลเชิงเส้นตรง (Linear effect) ของ X_i

β_{ii} = เป็นผลเชิงเส้นโค้ง (Quadratic effect) ของ X_i

β_{ij} = เป็นผลของปฏิกิริยาสัมพันธ์ (Interaction effect) ของX_i และ X_j

2. การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken Design

Box-Behken Design เป็นการออกแบบการทดลองโดยจำลองมาจากกล่อง ซึ่งกล่องจะมีความกว้าง ความสูง ความหนา ในรูปแบบ 3 มิติ สามารถกำหนดตำแหน่งของแต่ละจุดได้โดยที่ค่าสูงสุดเป็น +1 ค่ากลางเป็น 0 และค่าต่ำสุดเป็น -1



ภาพที่ 4 การออกแบบการทดลองในรูปของกล่อง โดยวิธีพื้นผิวตอบสนองแบบ BBD
ที่มา: (นักรบ, 2558)

กล่อง 3 มิติ จะมีขอบทั้งหมด 12 ขอบ โดย Box-Behken Design จะเลือกทำการทดลองตำแหน่งที่จุดกึ่งกลางของขอบ 12 ขอบ และทำซ้ำที่จุดศูนย์กลางของกล่องอย่างน้อย 3 ครั้ง ดังนั้น Box-Behken Design ทำการทดลองทั้งหมด 15 ครั้ง

อัลตร้าโซนิกส์

อัลตราโซนิกส์ (ultrasonics) หรือ เหนือเสียง หมายถึง คลื่นเสียงที่มีความถี่สูงกว่า 20 KHz ขึ้นไป จะสูงขึ้นจนถึงเท่าใดไม่ได้ระบุจำกัดเอาไว้ ซึ่งเป็นความถี่ที่สูงเกินกว่าที่ประสาทหูมนุษย์จะได้ยิน ซึ่งโดยทั่วไปแล้วหูของมนุษย์โดยเฉลี่ยจะได้ยินเสียงสูงถึงเพียงแค่ประมาณ 15 KHz สมบัติเด่นของคลื่นย่านอัลตราโซนิกส์ คือเป็นคลื่นที่มีทิศทางทำให้เราสามารถเล็งคลื่นเสียงไปยังเป้าหมายที่ต้องการได้โดยเจาะจง ไม่มีการเลี้ยวเบนที่ขอบ จึงพุ่งออกมาเป็นลำแคบๆ หรือที่เรียกว่า มีทิศทาง อุปกรณ์ที่สามารถแปลงพลังงานในรูปอื่นให้มาเป็นพลังงานทางกลโดยการสั่นไปมา ซึ่งทำให้เกิดคลื่นเสียงย่านอัลตร้าโซนิกส์กระจายไปในอากาศได้ หรือแปลงพลังงานทางกลให้มาเป็นพลังงานในรูปอื่นได้นั้น มีชื่อเรียกว่า อัลตราโซนิกส์ทรานสดิวเซอร์ (ultrasonic transducer)

ปัจจุบันมีการนำเอาคลื่นย่านอัลตราโซนิกส์มาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ทั้งเพื่อการตรวจวัดคุณภาพ และใช้ในการแปรรูปอาหาร (food processing) เช่น การสกัด (sonocation) การทำให้เกิดอิมัลชัน (emulsification) การทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์ เช่น รา ยีสต์ และแบคทีเรีย เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร ซึ่งอาจใช้ร่วมกับเทคนิคอื่น เช่น การแปรรูปด้วยความร้อน (thermal processing) การใช้ความดันสูง นอกจากนี้คลื่นอัลตราโซนิกส์ยังนำมาใช้ในการล้างทำความสะอาด (washing) วัตถุดิบ เช่น ผัก ผลไม้ สมุนไพร โดยให้น้ำสั่นที่ความถี่สูง สิ่งสกปรกจะหลุดออกมาได้ง่ายขึ้น (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2560b)

การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA)

เป็นวิธีการทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง ตั้งแต่ 3 กลุ่มขึ้นไป ซึ่งจะเป็นการวิเคราะห์หาอัตราส่วนระหว่างความแปรปรวนระหว่างกลุ่ม (Between-group variance) และความแปรปรวนภายในกลุ่ม (Within-group variance) ความแปรปรวนระหว่างกลุ่ม เป็นค่าที่เกิดจากความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มต่าง ๆ ถ้าค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มต่าง ๆ แตกต่างกันมาก ค่าความแปรปรวนระหว่างกลุ่มก็จะมากตามไปด้วย สำหรับความแปรปรวนภายในกลุ่มเป็นค่าที่แสดงให้เห็นว่า คะแนนแต่ละตัวที่รวบรวมมานั้นภายในแต่ละกลุ่มมีการกระจายมากหรือน้อย ค่าที่คำนวณได้เรียกว่าความคลาดเคลื่อน

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จุฑามาศ (2551) ได้ทำการศึกษาจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มของอะซิติกแอซิตแบคทีเรีย จากการคัดเลือกพบว่า OR2 ผลิตกรดได้สูงสุด เมื่อจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางพันธุศาสตร์พบว่าเป็นแบคทีเรีย *Acetobacter tropicalis* จากการศึกษาคุณสมบัติบางประการพบว่า *A. tropicalis* เจริญได้ใน แอลกอฮอล์ 5% และกรด 1% นอกจากนี้ยังทนต่อความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ได้ถึง 14% และทนต่อความเข้มข้นของกรดอะซิติกได้ถึง 15% เมื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดของ *A. tropicalis* พบว่า เมื่อเลี้ยงในสาโทที่ประกอบด้วย แอลกอฮอล์ 8% กรดอะซิติก 3% และเลี้ยงแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 140 รอบต่อนาที ที่ 30 องศาเซลเซียส ผลิตกรดได้ 2.71% ในวันที่ 3 ของการเลี้ยง ในขณะที่เลี้ยง *A. tropicalis* ในสาโทกลั่น ซึ่งประกอบด้วย แอลกอฮอล์ 3% กรดอะซิติก 3% และให้อากาศที่มีความเข้มข้นของออกซิเจน 7.7 mg/l ผลิตกรดได้ 3.69% ในวันที่ 3 ของการเลี้ยง

เจนจิรา และคณะ (2557) ได้ทำการศึกษาคุณภาพและการทดสอบทางประสาทสัมผัสของไวน์เปลือกกาแฟที่มีอัตราส่วนประกอบที่แตกต่างกันจำนวน 4 สูตร (ไวน์สูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 ใช้ปริมาณเปลือกกาแฟสุก 300 400 และ 500 กรัม ตามลำดับ ส่วนสูตรที่ 4 ใช้เปลือกกาแฟสุก 250 กรัม และเมล็ดกาแฟ 250 กรัม โดยไวน์ทุกสูตรประกอบด้วย น้ำตาลทรายขาว 500 กรัม ยีสต์สำเร็จรูป 4 กรัม และน้ำกลั่น 2.5 ลิตร) บ่มนาน 6 เดือน พบว่า ค่า pH ของไวน์สูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 3.97 ปริมาณกรดซิตริก กรดมาลิก และกรดทาร์ทาริก ไวน์สูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 มีค่าเฉลี่ยสูงสุดคือ 0.59 0.61 และ 0.69 ตามลำดับ และแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับไวน์สูตรที่ 4 (0.44 0.46 และ 0.51 ตามลำดับ) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และปริมาณแอลกอฮอล์ ไวน์สูตรที่ 1 มีค่าสูงสุด คือ 12.00°Brix และ 13.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนคะแนนด้านสี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมผลิตภัณฑ์ไวน์สูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 มีคะแนนเฉลี่ยคือ (3.58 3.46 3.31 และ 3.34 คะแนน) ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับไวน์สูตรที่ 4 (ซึ่งให้คะแนนดังกล่าวน้อยที่สุด) ด้านความใส ไวน์สูตรที่ 1 ได้คะแนนเฉลี่ยสูงสุด คือ 3.97 คะแนน จากผลการศึกษาแสดงว่า ไวน์สูตรที่ 1 มีคุณภาพและมีคะแนนด้านการทดสอบทางประสาทสัมผัสดีที่สุด ดังนั้นอัตราส่วนประกอบของไวน์สูตรที่ 1 มีความเหมาะสมในการผลิตไวน์เปลือกกาแฟ

ชุติมณฑน์ และคณะ (2553) วัสดุเหลือทิ้งหลัก ๆ ของกระบวนการผลิตกาแฟอาราบิก้าและธุรกิจกาแฟสด คือ เนื้อผลกาแฟ และกากกาแฟ ตามลาดับ ซึ่งเป็นสาเหตุของปัญหาสิ่งแวดล้อม มีรายงานว่ากาแฟมีองค์ประกอบที่มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชั่นอยู่สูง เมื่อเปรียบเทียบกับผลไม้ชนิดอื่น ๆ

โดยองค์ประกอบดังกล่าวจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ส่วนของผลกาแฟ พื้นที่ปลูก กระบวนการผลิต เป็นต้น ซึ่งยังไม่มีข้อมูลดังกล่าวของกาแฟอาราบิก้าที่ผลิตในจังหวัดเชียงราย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านออกซิเดชั่นในรูปของปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol content: TPC) ฤทธิ์การต้านออกซิเดชั่น โดยวิธี DPPH และ FRAP ของผลกาแฟทั้งผล เนื้อผลกาแฟสด เมล็ดกาแฟ เนื้อผลกาแฟจากโรงงานผลิตกาแฟ และกากกาแฟจากร้านกาแฟสดในจังหวัดเชียงราย เพื่อเป็นแนวทางการเพิ่มมูลค่าให้วัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตกาแฟซึ่งจะสามารถลดปัญหาสิ่งแวดล้อมได้ โดยเก็บตัวอย่างผลกาแฟจากดอยช้าง และกากกาแฟจากร้านขายกาแฟสดในจังหวัดเชียงราย โดยพบว่าเมล็ดกาแฟ (1.42 %) มีค่า TPC ในรูปของกรดแกลิก (% gallic acid) ต่อน้ำหนักแห้ง สูงที่สุด รองลงมาคือ เนื้อผลกาแฟที่ได้จากโรงงาน (1.22 %) ผลกาแฟ (1.18 %) เนื้อผลกาแฟสด (0.96 %) และกากกาแฟ (0.36-0.42 %) ตามลาดับ โดยเนื้อผลกาแฟที่ได้จากโรงงาน มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชั่นที่วิเคราะห์โดยวิธี DPPH (1,212,621 ไมโครโมล โทรล็อก (trolox) ต่อ 100 กรัมน้าหนักแห้ง) และ FRAP (0.64 % กรดแอสคอบิก โดยน้ำหนักน้ำหนักแห้ง) สูงที่สุด รองลงมาคือ เมล็ดกาแฟ กาแฟทั้งผล และกากกาแฟ ตามลำดับ

นภมณฑล (2547) ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติกจาก *A. aceti* TISTR 102 โดยศึกษาถึงความเข้มข้นเริ่มต้นที่เหมาะสมของแอลกอฮอล์ที่ร้อยละ 6 ร้อยละ 9 และร้อยละ 12 พบว่า *A. aceti* TISTR 102 แอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 6 ให้ปริมาณกรด อะซิติกสูงที่สุดคือ 16.6 กรัมต่อลิตร ในเอกสารการนำเสนอเรื่องการผลิตกรดอะซิติกจากแอลกอฮอล์โดยวิธีทางชีววิภาพ กล่าวว่าเชื้อสามสายพันธุ์ที่ผลิตกรดอะซิติกได้มากที่สุดในบรรดาเชื้ออีก 7 สายพันธุ์ คือ *A. pasteurianus* TISTR 520, *A. pasteurinus* TISTR 521 และ *A. aceti* TISTR 401 และความเข้มข้นเอทานอลที่เหมาะสมเพื่อใช้เลี้ยงเชื้อและผลิตกรดอะซิติก เท่ากับร้อยละ 6 โดย ควบคุม pH ในช่วง 4.0-4.5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำให้ได้ปริมาณกรดตามลำดับคือ 44.3, 42.6 และ 46 กรัมต่อลิตร

Sánchez-Palomo *et al.* (2017) นำผงไม้โอ๊ค (ใช้เฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อไม้) 7 กรัม/ลิตร มาใช้ในกระบวนการหมักไวน์ขาว (Verdejo white wines) ที่ขั้นตอนการผลิตไวน์แตกต่างกัน คือ ในระหว่างกระบวนการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ และหลังจากสิ้นสุดกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ (บ่ม) โดยเปรียบเทียบกับการผลิตไวน์แบบดั้งเดิมที่บ่มในถังไม้โอ๊ค พบว่า การนำผงไม้โอ๊คมาเติมในขั้นตอนการผลิตไวน์ขาวทั้งสองขั้นตอนนั้นให้ปริมาณสารสำคัญที่มีในไวน์สูงกว่าวิธีการผลิตไวน์แบบดั้งเดิม ได้แก่ alcohols, ethyl acetate, hexyl acetate, isoamyl acetates และ ethyl esters นอกจากนี้ยังมีสารสำคัญจากผงไม้โอ๊คที่ได้สูงกว่าด้วย ได้แก่ สารประกอบ benzene, furanic และ oak lactones และวิธีดังกล่าวยังใช้ระยะเวลาในการบ่มไวน์ขาวสั้นกว่าวิธีการบ่มแบบดั้งเดิมในถังไม้โอ๊ค

บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี เชื้อแบคทีเรีย และวิธีการทดลอง

วัตถุดิบ

เนื้อผลกาแฟอาราบิก้า (บริษัท ฮิลล์คอฟฟ์ จำกัด)

เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

1. เครื่องวัด pH ยี่ห้อ FiveEasy^{TM} Plus รุ่น FEP20 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
2. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ยี่ห้อ LabioMed, inc. รุ่น Spectro SC series 002416 ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (Hand refectometer) ยี่ห้อ Master ประเทศญี่ปุ่น
4. เครื่องชั่งวิเคราะห์ความชื้น ยี่ห้อ AND รุ่น MX-50 ประเทศญี่ปุ่น
5. เครื่องวัด a_w Meter ยี่ห้อ Aqua Lab รุ่น Series 3TE ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. เครื่องระเหยสุญญากาศ ยี่ห้อ Buchi R215 ประเทศ สวิสเซอร์แลนด์
7. เครื่องผสม ยี่ห้อ LMS รุ่น VTX-3000L ประเทศญี่ปุ่น
8. เครื่องหมุนเหวี่ยง ยี่ห้อ Gernmy Industrial Corp. รุ่น PLC-012E ประเทศ ไต้หวัน
9. เครื่องอัลตร้าโซนิกส์ ยี่ห้อ Honda รุ่น W-113 ประเทศญี่ปุ่น
10. เครื่องชั่งดิจิตอล แบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Ohaus coppocation รุ่น PA214 ประเทศสหรัฐอเมริกา
11. เครื่อง ebulliometer (Per Vinum J. Salleron Dujardin,) ประเทศฝรั่งเศส
12. บิวเรต ยี่ห้อ Wertlab ประเทศเยอรมัน
13. ขวดรูปชมพู่ 500 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Pyrex ประเทศเยอรมัน
14. ขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Pyrex ประเทศเยอรมัน
15. ขวดรูปชมพู่ 25 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Pyrex ประเทศเยอรมัน
16. บีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Pyrex No.1000 ประเทศเยอรมัน
17. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave)
18. ไมโครปิเปต ยี่ห้อ Nichipet EX II ประเทศญี่ปุ่น
19. แอร์ล็อก

สารเคมี

1. สารละลาย DPPH (2,2-dipheny-1-picrylhydrazy) ($C_{18}H_{12}N_5O_6$) บริษัท Aldaich ประเทศเยอรมัน
2. สารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent ($3H_2O.P_2O_5.13WO_3.5MoO_310H_2O$) บริษัท Lobachemie ประเทศอินเดีย
3. เมทานอล (CH_3OH) บริษัท Lab-scan ประเทศไทย
4. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) บริษัท Quality reagent ประเทศนิวซีแลนด์
5. สารละลาย D-glucose monohydrate บริษัท Unions science ประเทศไทย
6. สารละลาย Yeast Extract ยี่ห้อ Difco
7. กรดแกลลิก ($C_7H_6O_5$) บริษัท Fluka ประเทศเยอรมัน
8. เอทานอล (C_2H_5OH) บริษัท Lab-scan ประเทศไทย
9. โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟส (Potassium persulphate ($K_2S_2O_8$)) บริษัท Ajax ประเทศออสเตรเลีย
10. Ferric tripyridyltriazine (TPTZ 2, 4, 6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine บริษัท Fluka ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
11. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

เชื้อจุลินทรีย์

1. เชื้อแบคทีเรีย

   เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter pasteurianus* TISTR 102

2. ยีสต์

   ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ยี่ห้อ Lavin EC 1118

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1. โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เวอร์ชั่น 17.0
2. โปรแกรม Design – Expert 7.0.0

วิธีการดำเนินการทดลอง

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ

1.1 กระบวนการหมักเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์

ในขั้นตอนนี้จะใช้ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* 2 ยี่ห้อ ได้แก่ ยี่ห้อ Lavin และยี่ห้อ Red star โดยนำเนื้อผลกาแฟพันธุ์อาราบิกา (*Coffea Arabica* L.) มาล้างกำจัดสิ่งสกปรกด้วยน้ำสะอาด เพื่อนำมาใช้ในการผลิตไวน์ ซึ่งจะใช้วิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีของ (เจนจิรา และคณะ, 2557) โดยใช้อัตราส่วนเปลือกกาแฟพันธุ์อาราบิกา 30 กรัม ต่อน้ำ 2.5 ลิตร เมื่อน้ำเดือด จับเวลา 20 นาที แล้วจึงปิดแก๊ส จากนั้นกรองเอาเปลือกกาแฟออกโดยใช้ผ้าขาวบาง เติมน้ำตาลทรายขาวเพื่อปรับค่าความเป็น 24 องศาบริกซ์ ทิ้งน้ำต้มเปลือกกาแฟไว้จนกว่าอุณหภูมิจะได้ 50 องศาเซลเซียส แล้วเทลงในถังหมัก แล้วจึงเติมหัวเชื้อยีสต์ปริมาณ 25 กรัม ต่อ 100 ลิตร พร้อมทั้งใส่อาหารเลี้ยงยีสต์ Diammonium phosphate (DAP) ปริมาณ 0.5 กรัม/ลิตร ปิดถังด้วยแอร์ล็อค จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณร้อยละของแอลกอฮอล์ ทุกวัน ในขั้นตอนนี้จะได้ไวน์จากเปลือกกาแฟ

ภาพที่ 5 แสดงขั้นตอนการหมักเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์จากเนื้อผลกาแฟ

1.1.1 การหาปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้

ทำการวัดโดยใช้ hand refractometer (รุ่น MASTER) หยดไวน์ปริมาณ 2 หยด ลงบนแผ่นปริซึม ปิดด้วยแผ่นกันแสงให้ไวน์อยู่ทั่วแผ่นปริซึม อ่านสเกลที่ได้ผ่านทาง eyepiece ในที่มีแสง บันทึกค่าที่อ่านได้ ทำเช่นเดียวกันนี้กับไวน์จากเปลือกกาแฟ จำนวน 3 ซ้ำ (โดยต้องทำความสะอาดแผ่นปริซึมให้สะอาดทุกครั้งก่อนทำการวัดในครั้งถัดไป)

1.1.2 การวัดค่า pH

จะทำโดยการนำไวน์จากเปลือกกาแฟปริมาณ 20 มิลลิลิตร ไปวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter (ยี่ห้อ FiveEasy™ Plus รุ่น FEP20 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์) จากนั้นทำการอ่านค่าและบันทึกผล โดยทำเช่นเดียวกันนี้ จำนวน 3 ซ้ำ

1.1.3 การวัดปริมาณแอลกอฮอล์

จะทำการตรวจวัดโดยใช้เครื่อง ebulliometer (Per Vinum J. Salleron Dujardin ประเทศฝรั่งเศส) โดยการวัดจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ วัดจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ก่อนแล้วจึงหาจุดเดือดของไวน์ โดยการเติมน้ำกลั่นจนถึงขีด EAU และเทใส่ boiling chamber จากนั้นใส่เทอร์โมมิเตอร์ให้ปลายอยู่เหนือน้ำใน boiling chamber ต้มน้ำจนเดือดด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์ เมื่อถึงจุดเดือดที่อุณหภูมิคงที่ ทำการอ่านค่าและบันทึกอุณหภูมิจุดเดือดของน้ำกลั่นจากเทอร์โมมิเตอร์แล้วนำค่าจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ที่ได้ ไปตั้งในแผ่นอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ (Dosage de I'Alcool dans les vins) โดยตั้งจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ที่อ่านได้ (ดูสเกลด้านใน) ให้ตรงกับเลข 0.0 จากนั้นหาจุดเดือดของไวน์จากเปลือกกาแฟ โดยการเติมไวน์ลงไปในหลอดแก้วของเครื่อง ebulliometer จนถึงขีด VIN แล้วเทใส่ boilling chamber ต่อมาเติมน้ำลงในส่วนควบแน่น จากนั้นใส่เทอร์โมมิเตอร์ให้ปลายอยู่เหนือไวน์ใน boiling chamber ต้มไวน์ตัวอย่างจนเดือดด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์ เมื่อถึงจุดเดือดที่อุณหภูมิคงที่ประมาณ 20 วินาที อ่านจุดเดือดของไวน์และบันทึกผล ทำการอ่านและบันทึกผลเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ของไวน์ (ดูที่สเกลนอก) ที่อยู่ตรงกันกับจุดเดือดของสารตัวอย่าง (ดูที่สเกลใน) จากแผ่นอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ และบันทึกผล โดยทุกครั้งที่เปลี่ยนตัวอย่างไวน์ควรล้างทำความสะอาด boiling chamber ทุกครั้ง และเปลี่ยนน้ำในส่วนควบแน่นอยู่เสมอ (เจนจิรา และคณะ, 2557)

1.1.4 การหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดทาร์ทาริก

ทำได้โดยการเติมกลั่น 10 มิลลิลิตร และไวน์ 1 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ หยดฟีนอฟทาลีน (phenolpthalein) 2 หยด เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปไตเตรทกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 0.1 N ทำการบันทึกปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ ทำเช่นเดียวกันนี้จำนวน 3 ซ้ำ จากนั้นนำค่าที่บันทึกได้ไปคำนวณหาปริมาณกรดทาร์ทาริกจากสมการที่ 3. (เจนจิรา และคณะ, 2557)

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดทาร์ทาริก} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ NaOH (0.1N)}\times\text{ปริมาตร NaOH ที่ใช้ (มิลลิลิตร)}\times 0.075\times 100}{\text{ปริมาตรไวน์เปลือกกาแฟ (มิลลิลิตร)}} \quad \ldots (3.1)$$

1.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

ในขั้นตอนนี้จะทำการศึกษาเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter pasteurianus* TISTR 102 ที่ใช้ (ร้อยละ 5-15) ปริมาณของแอลกฮอล์ที่ใช้ (ร้อยละ 6-10) และปริมาณกลูโคสที่ใช้ (ร้อยละ 6-14) ในการหมัก เพื่อให้ได้กรดอะซิติกจากไวน์เปลือกกาแฟที่เตรียมได้จากขั้นตอนที่ 1.1 ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติก และค่าความเป็นกรด-ด่าง ทุกวัน ทำการออกแบบการทดลองด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง แบบ Box-Behken Design โดยตั้งค่ารหัสจากตารางที่ 3 มาออกแบบ Box-Behken Design ดังตารางที่ 4

1.2.1 การหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติก

ทำได้โดยการเติมกลั่น 10 มิลลิลิตร และไวน์ 1 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ หยดฟีนอฟทาลีน (phenolpthalein) 2 หยด เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปไตเตรทกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 0.1 N ทำการบันทึกปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ ทำเช่นเดียวกันนี้จำนวน 3 ซ้ำ จากนั้นนำค่าที่บันทึกได้ไปคำนวณหาปริมาณกรดทาร์ทาริกจากสมาการที่ 3.2 (เจนจิรา และคณะ, 2557)

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดอะซิติก} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ NaOH (0.1N)}\times\text{ปริมาตร NaOH ที่ใช้ (มิลลิลิตร)}\times 0.064\times 100}{\text{ปริมาตรไวน์เปลือกกาแฟ (มิลลิลิตร)}} \quad \ldots (3.2)$$

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าจริงและรหัสของตัวแปร

ปัจจัยที่ต้องศึกษา	ตัวแปร	ระดับความสำคัญ		
		-1	0	1
ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)	X_1	6	8	10
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ร้อยละ)	X_2	6	10	14
ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย (ร้อยละ)	X_3	5	10	15

ตารางที่ 4 การวางแผนการทดลองด้วยวิธี Box-Behken Design

Run	X_1	X_2	X_3	Y_1
1	6 (-1)	6 (-1)	10 (0)	
2	10 (1)	6 (-1)	10 (0)	
3	6 (-1)	14 (1)	10 (0)	
4	10 (1)	14 (1)	10 (0)	
5	6 (-1)	10 (0)	5 (-1)	
6	10 (1)	10 (0)	5 (-1)	
7	6 (-1)	10 (0)	15 (1)	
8	10 (1)	10 (0)	15 (1)	
9	8 (0)	6 (-1)	5 (-1)	
10	8 (0)	14 (1)	5 (-1)	
11	8 (0)	6 (-1)	15 (1)	
12	8 (0)	14 (1)	15 (1)	
13	8 (0)	10 (0)	10 (0)	
14	8 (0)	10 (0)	10 (0)	
15	8 (0)	10 (0)	10 (0)	

2. นำน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักในข้อ 1.2 มาทำการการศึกษาการเพิ่มอัตราการระเหยน้ำออกจากผลิตภัณฑ์โดยใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ โดยการศึกษาระยะเวลาในการระเหยน้ำออกจากผลิตภัณฑ์จนได้น้ำหนักตามต้องการ (ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดที่ได้) ในการผลิตเป็นน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

3. นำน้ำส้มสายชูหมักที่ได้จากการกลั่นระเหยแบบสุญญากาศในข้อที่ 2 มาเป็นตัวทำละลายสำหรับการสกัดสารสำคัญจากผงไม้โอ๊ค โดยใช้อัตราส่วนผงไม้โอ๊คต่อน้ำส้มสายชู 7 กรัม ต่อ 1 ลิตร สกัดด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิกส์ที่ความถี่ 28 kHz เป็นเวลานาน 30 นาที จากนั้นทำการกรองผงไม้โอ๊คออก เพื่อรอการวิเคราะห์สารสกัดจากผงไม้โอ๊คโดยใช้เครื่อง Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS)

4. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี ทางกายภาพ และทางจุลชีววิทยา ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ค่าสี และอื่นๆ ของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

5. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การทดสอบฤทธิ์ชีวภาพของผลิตภัณฑ์โดยการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสามารถวิเคราะห์ได้หลายวิธี แต่วิธีที่เลือกทำในงานวิจัยนี้ จะทำโดยการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH assay)

5.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH assay)

วิธีที่ใช้ในงานวิจัยนี้จะเป็นวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีการของ (Shimada *et al.*, 1992) โดยจะมีวิธีการดังนี้ ในขั้นตอนการเตรียมสารละลาย DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) จะทำโดยการชั่งสาร 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl จำนวน 0.1972 กรัม จากนั้นปรับปริมาตรด้วยเมทนอลเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย DPPH เข้มข้น 5 mM ปิเปตสารละลาย DPPH นี้มา 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลจนครบ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 mM (สารละลายนี้ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้งาน)

จากนั้นทำการวิเคราะห์น้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ โดยการปิเปตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 mM ในเมทานอล 2.9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ด้วยเครื่องผสม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที (ในที่มืด) พร้อมกันนี้ทำตัวอย่างควบคุม (control) หรือสารละลาย DPPH ที่ไม่มีตัวอย่างสารสกัด วิเคราะห์ตามวิธีการเดียวกัน จากนั้นนำตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักและตัวอย่างควบคุมมาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร คำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นร้อยละของการยับยั้ง (% inhibition) ดังสมการที่ 3.4

$$\%Inhibition = \frac{(Acontrol - Asample)}{Acontrol} \times 100 \quad \text{... (3.4)}$$

5.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic compounds) ด้วยวิธี Folin- Ciocalteu's reagent

การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้จะดัดแปลงจากวิธีของ (Onanong *et al.*, 2011) โดยวิธีการทดสอบดังนี้ เริ่มจากนำน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 2 (โดยมวลต่อปริมาตร) จำนวน 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ปิดปากหลอดด้วยกระดาษฟอยด์หรือถุงฟอยด์ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที (ในที่มืด) แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (S1200 Visible Diode Array Spectrophotometer, WPA Spectrawave, England) ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (gallic acid) และรายงานผลการทดลองเป็นมิลลิกรัมต่อกรัมกรดแกลลิก (mg/ml Galic acid equivalent, GAE)

ตารางที่ 5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (ppm)	ปริมาตรสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1,000 ppm	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
0	0	10
100	1	9
200	2	8
300	3	7
400	4	6
500	5	5
600	6	4
700	7	3
800	8	2
900	9	1
1000	10	0

6. การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความชอบของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

โดยจะทำการพิจารณาในด้านสี กลิ่น รสชาติ ความใส (ไม่ตกตะกอน) และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ โดยสุ่มผู้ทดสอบจำนวน 60 คน ใช้ประเมินแบบให้คะแนนโดยวิธี 5 point hedonic scale ซึ่งมีการให้คะแนนต่ำสุด คือ 1 คะแนน และคะแนนสูงสุด คือ 5 คะแนน (1 คะแนน=ไม่ชอบมาก, 2 คะแนน=ไม่ชอบ, 3 คะแนน= เฉยๆ, 4 คะแนน=ชอบ, 5 คะแนน= ชอบมาก) และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ

การศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัวของสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

จากกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟเพื่อนำมาทำการศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อดูอายุการเก็บรักษาซึ่งจะทำการศึกษาที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 25 35 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์

การศึกษากฎอัตราปฏิกิริยาการสลายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระและค่าครึ่งชีวิต

ในการศึกษากฎอัตราปฏิกิริยาการสลายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อตัดสินว่าเป็นปฏิกิริยาอันดับที่เท่าใดซึ่งสามารถหาได้โดยการพลอตกราฟระหว่างปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ณ เวลาใดๆกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเริ่มต้น (Andersson *et al.,* 2003)

ปฏิกิริยาอันดับที่ 0 $C_t = -kt + C_0$ ..... (3.5)

ปฏิกิริยาอันดับที่ 1 $\ln(C_t/ C_0) = -kt$ ..... (3.6)

ปฏิกิริยาอันดับที่ 2 $1/(C_t/ C_0) = kt$ ..... (3.7)

C_t= คือปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเมื่อเวลาผ่านไป t หลังจากได้รับความร้อนตามอุณหภูมิที่กำหนดไว้

C_0= ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเริ่มต้น

k = ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยา

t = เวลาการเกิดปฏิกิริยา

การคำนวณค่าครึ่งชีวิต

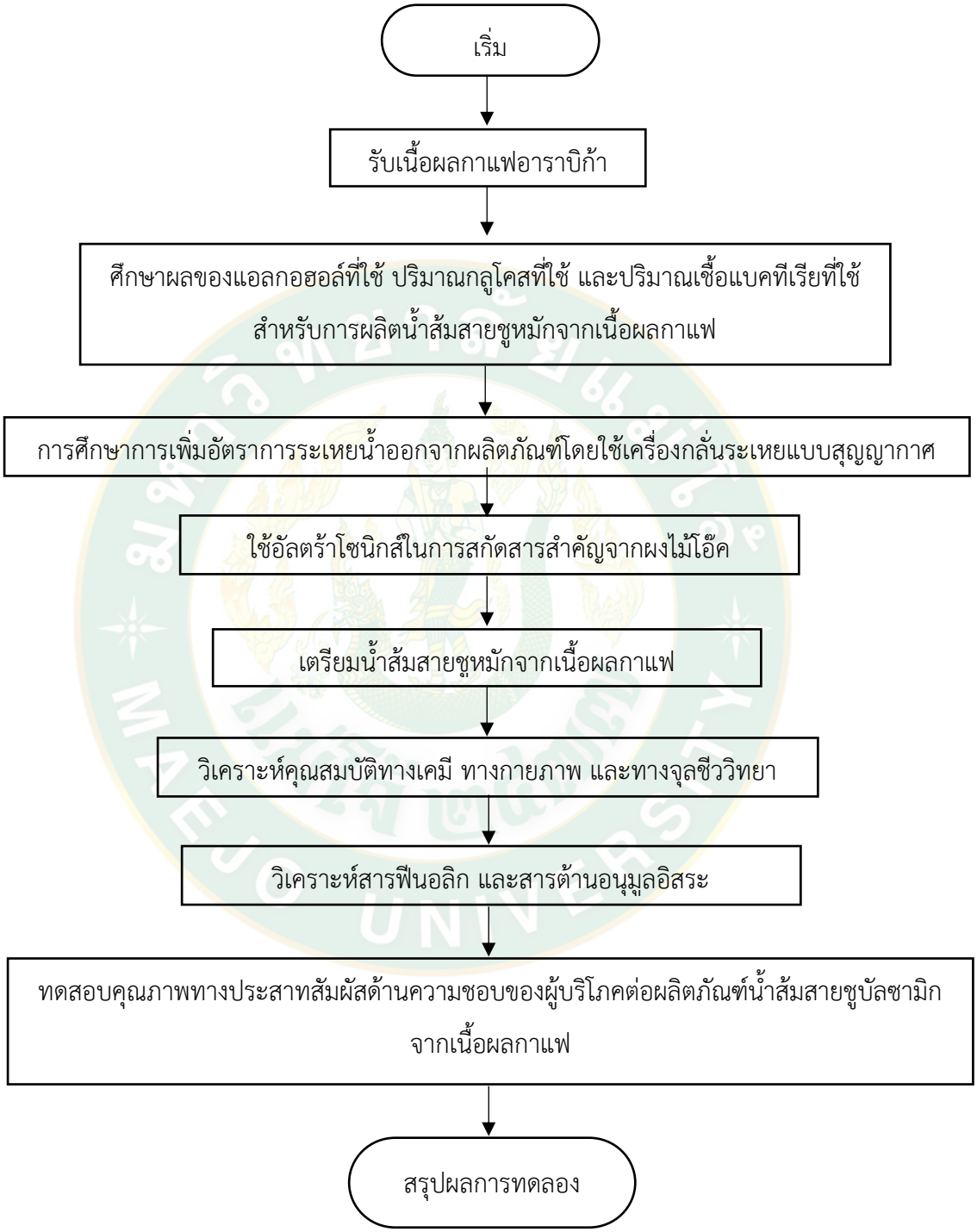
จากสมการเส้นตรงของปฏิกิริยาอันดับต่างๆสามารถนำมาหาค่าครึ่งชีวิตได้ดังสมการที่ 3.8 ซึ่งจะแสดงเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาจนความเข้มข้นของสารตั้งต้นลดลงครึ่งหนึ่งจากความเข้มข้นเริ่มต้น (ศุทธินี, 2556)

$$t_{1/2} = -\ln 0.5 \times k^{-1} \quad \ldots\ldots (3.8)$$

$t_{1/2}$ = ค่าครึ่งชีวิต

k^{-1} = ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

แผนการดำเนินงาน



ภาพที่ 6 แผนภาพขั้นตอนการดำเนินงาน

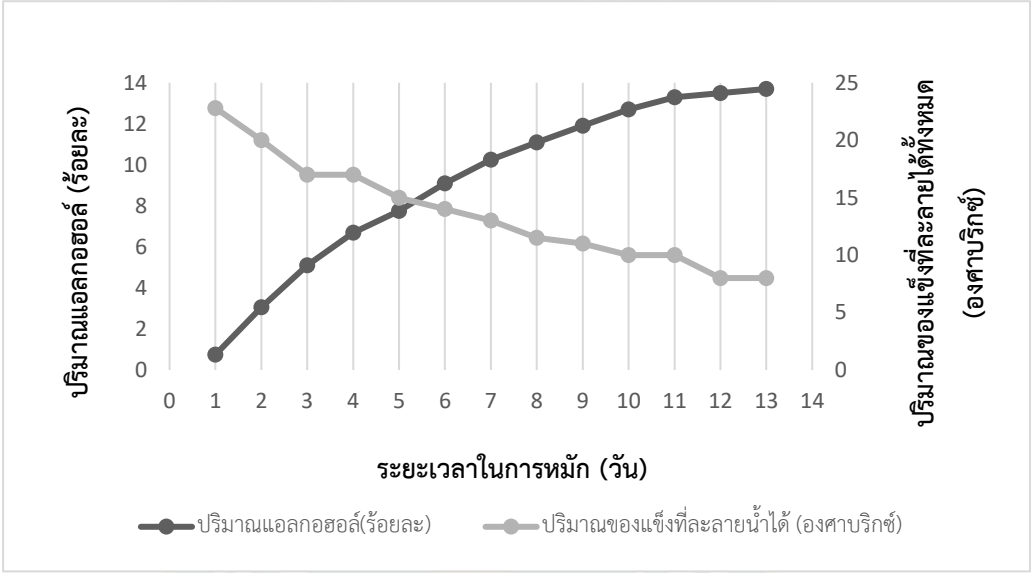
บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาเพื่อพัฒนากระบวนการบ่มสำหรับการผลิตน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟโดยใช้เทคนิคอัลตร้าโซนิกส์ร่วมกับเทคนิคการใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมี ทางกายภาพ ทางจุลชีววิทยา วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ และเพื่อศึกษาจลนพลศาสตร์ และความคงตัวของน้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

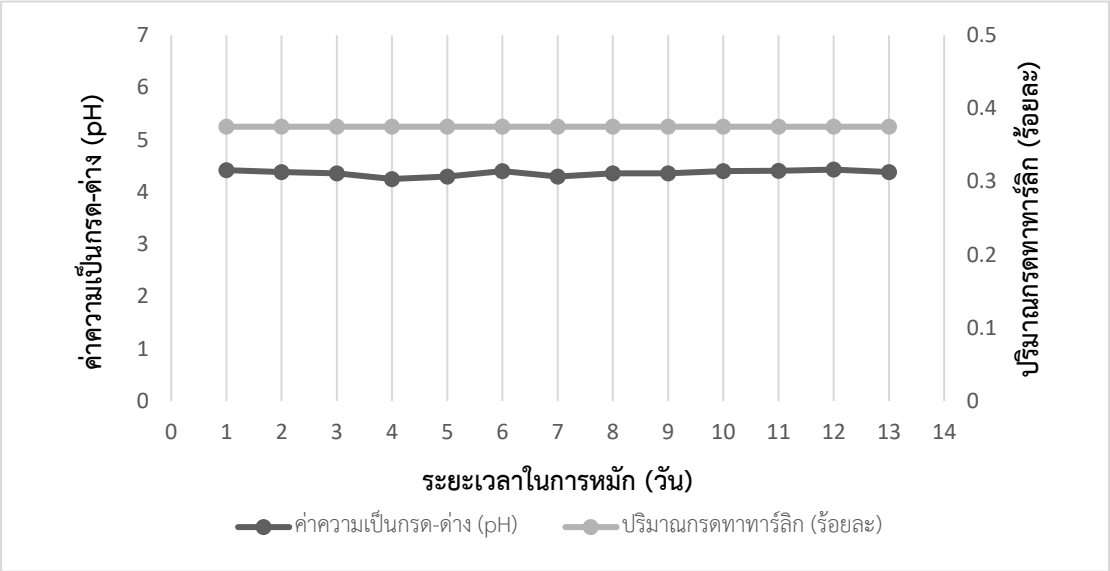
กระบวนการผลิตแอลกอฮอล์จากเนื้อผลกาแฟ

ในกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์ของน้ำหมักจากเนื้อผลกาแฟเป็นวัตถุดิบตั้งต้นโดยใช้ยีสต์แห้ง (*Saccharomyces cerevisiae* (Lalvin EC-1118)) ในน้ำหมักจากเนื้อผลกาแฟที่มีการปรับค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid) เท่ากับ 24 องศาบริกซ์ จากผลการทดลองพบว่าในระหว่างกระบวนการหมักมีการเปลี่ยนแปลงค่าทางเคมีอย่างมีนัยสำคัญ โดยเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณร้อยละของแอลกอฮอล์จะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนระยะเวลาในการหมักผ่านไป 2 สัปดาห์ ปริมาณร้อยละของแอลกอฮอล์จะเริ่มคงที่ที่ร้อยละ 13 โดยปริมาตร แต่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีการลดลงอย่างต่อเนื่อง จากเดิม 24 องศาบริกซ์ และเริ่มคงที่ลดจากเดิมเหลือเพียง 8 องศาบริกซ์ ที่ระยะเวลาในการหมักผ่านไป 2 สัปดาห์ เนื่องจากยีสต์มีการเปลี่ยนน้ำตาลในน้ำหมักจากเนื้อผลกาแฟไปเป็นแอลกอฮอล์ และมีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 4.25-4.43 ซึ่งแอลกอฮอล์ทำให้ยีสต์หยุดการเจริญเติบโตได้ โดยปกติเชื้อยีสต์จะเจริญเติบโตได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.5 (กุลวดี, 2552) จากภาพที่ 8 ได้แสดงผลของการกระบวนการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (Lalvin EC-1118) โดยใช้น้ำหมักจากเนื้อผลกาแฟเป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ ซึ่งได้แสดงปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ) และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์) ในระหว่างกระบวนการหมัก และภาพที่ 9 แสดงผลของกระบวนการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (Lalvin EC-1118) โดยใช้น้ำหมักจากเนื้อผลกาแฟเป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ ซึ่งได้แสดงปริมาณกรด (ร้อยละ) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในระหว่างกระบวนการหมัก ซึ่งไวน์จากเนื้อผลกาแฟที่ได้มีความสอดคล้องกับ (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนไวน์ผลไม้, 2561)ที่ระบุไว้ว่าไวน์ผลไม้ที่ทำจากการนำวัตถุดิบจำพวกผลไม้มาผ่านกรรมวิธีการผลิตไวน์

ผลไม้ควรมีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี/ร้อยละโดยปริมาตร ซึ่งแตกต่างกับงานวิจัยของ (ณัฏฐ์นรี และคณะ, 2558) ที่ได้ทำการศึกษายีสต์สายพันธุ์ YAP3-3 และ YAP3-6 ที่แยกได้จากน้ำตาลเมาถูกนำมาหมักไวน์น้ำตาลสดผสมกระชายดำเปรียบเทียบกับยีสต์สายพันธุ์มาตรฐาน *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5049T โดยปรับน้ำหมักเริ่มต้นที่ 25 องศาบริกซ์ (°Brix) ด้วยน้ำตาลให้มีของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด หลังจากทำการหมักนาน 14 วัน พบว่า หัวเชื้อยีสต์เริ่มต้นของสายพันธ์ YAP 3-6, YAP3-3 และ *S. cerevisiae* TISTR 5049T ที่ความเข้มข้น 6% สามารถผลิตปริมาณแอลกอฮอล์ได้ 8.3, 7.5 และ 6.83% ให้ค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสุดท้าย เท่ากับ 6.6 7.46 และ 7.83 องศาบริกซ์



ภาพที่ 7 กระบวนการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (Lalvin EC-1118) โดยใช้น้ำหมักจากเนื้อผลกาแฟแห้งเป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ ซึ่งได้แสดงปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ) และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์) ในระหว่างกระบวนการหมัก



ภาพที่ 8 กระบวนการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (Lalvin EC-1118) โดยใช้น้ำหมักจากเนื้อผลกาแฟแห้งเป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ ซึ่งได้แสดงปริมาณกรด (ร้อยละ) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในระหว่างกระบวนการหมัก

การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ

1. การออกแบบการทดลองด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ มีปัจจัยที่ต้องการศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ร้อยละ 6-10 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ร้อยละ 6-14 และปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter pasteurianus* TISTR 102 ที่ใช้ ร้อยละ 5-15 และทำการวางแผนการทดลองด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองแบบ Box-Behken Design โดยกำหนดตัวแปรที่ศึกษาและระดับการทดลองของความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ (X_1) ปริมาณกลูโคสที่ใช้ (X_2) และปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ (X_3) ซึ่งกำหนดค่าปัจจัยเป็น 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ (-1) ระดับกลาง (0) และระดับสูง (1) โดยทำการทดลองที่สภาวะต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3 หลังจากทำการทดลองแล้วนำข้อมูลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและทำการสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์แบบสมการพหุนามกำลังสอง

ตารางที่ 6 ผลของการออกแบบพื้นที่ผิวตอบสนองของปริมาณกรดอะซิติก โดยวิธีการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behken Design (BBD)

ลำดับ	ปัจจัย			ปริมาณกรดอะซิติก
การทดลอง	(X_1)	(X_2)	(X_3)	(Y)
1	6 (-1)	6 (-1)	10 (0)	0.32
2	10 (1)	6 (-1)	10 (0)	0.32
3	6 (-1)	14 (1)	10 (0)	0.32
4	10 (1)	14 (1)	10 (0)	2.56
5	6 (-1)	10 (0)	5 (-1)	2.56
6	10 (1)	10 (0)	5 (-1)	2.56
7	6 (-1)	10 (0)	15 (1)	1.28
8	10 (1)	10 (0)	15 (1)	2.56
9	8 (0)	6 (-1)	5 (-1)	0.32
10	8 (0)	14 (1)	5 (-1)	1.6
11	8 (0)	6 (-1)	15 (1)	1.6
12	8 (0)	14 (1)	15 (1)	2.56
13	8 (0)	10 (0)	10 (0)	2.88
14	8 (0)	10 (0)	10 (0)	2.88
15	8 (0)	10 (0)	10 (0)	2.88

หมายเหตุ กำหนดให้ X_1 ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ (ร้อยละ) X_2 ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ร้อยละ) X_3 ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย (ร้อยละ)

2. การสร้างสมการทำนายปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ

จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R- Square, R^2) มีค่าเท่ากับ 0.8926 หมายความว่าตัวแปรอิสระ (ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ (X_1) ปริมาณของกลูโคสที่ใช้ (X_2) และปริมาณของเชื้อ *Acetobacter pasteurianus* TISTR 102 (X_3) มีปริมาณกรดอะซิติกที่ได้ (Y)) ได้ร้อยละ 89.26 ซึ่งค่า R^2 เป็นค่าที่ใช้เพื่อพิจารณาความเหมาะสมของแบบจำลอง โดยแบบจำลองที่ดีควรมีค่า R^2 เข้าใกล้ 1.0 การทดสอบความเหมาะสมของสมการถดถอยพิจารณาจาก Lack of Fit ซึ่งจากข้อมูลการทดลองนี้มีค่าเท่ากับ 0.55 พบว่าไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แสดงว่าแบบจำลองที่ได้มีความเหมาะสมกับข้อมูลการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ในตารางที่ 7 พบว่า P-value ในเทอมกำลังสองของ X_2^2 มีค่าเท่ากับ 0.0062 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่านัยสำคัญทางสถิติที่กำหนด แสดงว่ามีส่วนโค้งเกิดขึ้นที่พื้นที่ผิวตอบสนอง

จากการวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อสร้างสมการทางคณิตศาสตร์ พบว่าสมการพหุนามกำลังสองถูกเลือกมาใช้ในการทำนายหาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ เพื่อให้ได้ปริมาณกรดอะซิติกสูงที่สุด ดังแสดงในสมการที่ 4.1

$$Y = 2.88 + 0.44X_1 + 0.56X_2 + 0.12X_3 + 0.56X_1X_2 + 0.32X_1X_3 - 0.080X_2X_3 - 0.64X_1^2 - 1.36X_2^2 \quad \text{..... (4.1)}$$

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

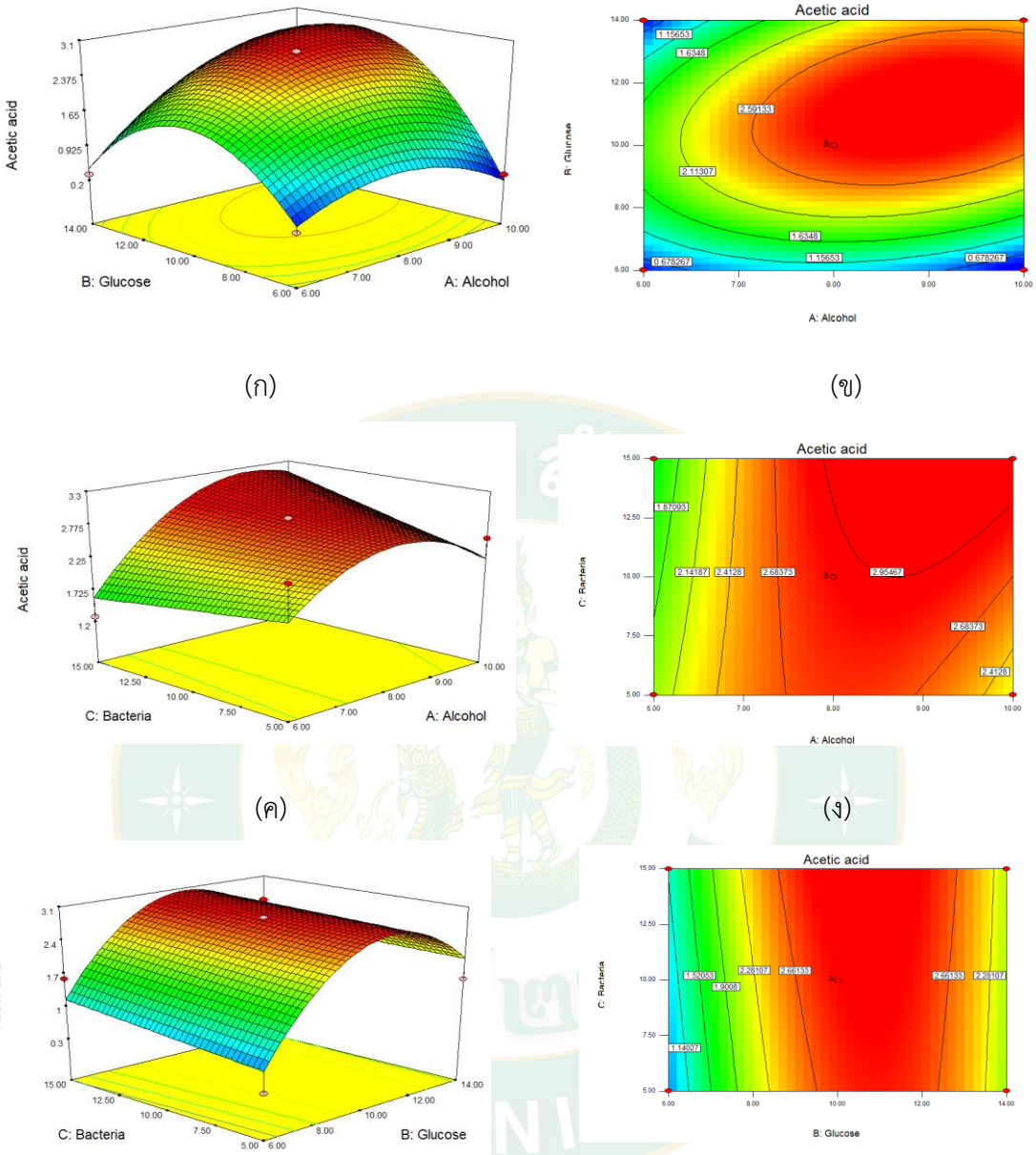
Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F-value	Prob > F	
Model	13.83	9	1.54	4.62	0.0534	Not significant
X_1	1.55	1	1.55	4.65	0.0835	
X_2	2.51	1	2.51	7.54	0.0405	
X_3	0.12	1	0.12	0.35	0.5816	
X_1X_2	1.25	1	1.25	3.77	0.1099	
X_1X_3	0.41	1	0.41	1.23	0.3177	
X_2X_3	0.026	1	0.026	0.077	0.7926	
X_1^2	1.51	1	1.51	4.54	0.0862	
X_2^2	6.83	1	6.83	20.52	0.0062	
X_3^2	0.000	1	0.000	0.000	1.0000	
Residual	1.66	5	0.33			
Lack of Fit	1.66	3	0.55			
Pure Error	0.000	2	0.000			
Cor Total	15.50	14				

Std.Dev.= 0.58, Mean = 1.81, R-Squared (R^2) = 0.8926, Adj R-Squared (Adj R^2) = 0.6993

3. การสร้างพื้นที่ผิวตอบสนองของปริมาณกรดอะซิติกจากกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ

จากกราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนองของปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ ในภาพที่ 9 (ก) ระหว่างค่าความเข้มข้นของแอลกอฮอล์และร้อยละของน้ำตาลกลูโคส โดยกำหนดให้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียคงที่ พบว่า เมื่อความเข้มข้นของแอลกอฮอล์และปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณกรดอะซิติกจากการหมักมีปริมาณสูงขึ้น จนถึงจุดๆ หนึ่ง แล้วค่อยๆ ลดลงมา เมื่อแสดงในลักษณะของกราฟโครงร่าง จะเห็นความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของแอลกอฮอล์และปริมาณน้ำตาลกลูโคส ส่งผลต่อปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากการหมักมีลักษณะไม่เป็นเส้นตรง ดังภาพที่ 9 (ข) โดยที่เส้นโค้งตรงกลาง (แถบพื้นที่สีส้ม) แสดงถึงปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากการหมักสูงสุดมีค่าร้อยละ 2.59 โดยปริมาตร ส่วนเส้นโค้งถัดออกมา (แถบพื้นที่สีเหลือง เขียว ฟ้า น้ำเงิน ตามลำดับ) จะแสดงถึงปริมาณกรดอะซิติกที่เริ่มลดลง คือ ร้อยละ 2.11, 1.63, 1.16 และ 0.68 โดยปริมาตร ตามลำดับ ซึ่งการลดลงของกรดอะซิติกเกิดจากเอทานอที่มีความเข้มข้นสูงจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ส่วนกลูโคสที่มีความเข้มข้นสูง จะทำให้เชื้อแบคทีเรียสร้างสารอื่นแทน เช่น เซลลูโลส หรือองค์ประกอบของเซลล์

จากกราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนองของปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ ในภาพที่ 9 (ค) ระหว่างค่าความเข้มข้นของแอลกอฮอล์และปริมาณเชื้อแบคทีเรีย โดยกำหนดให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสคงที่ พบว่า เมื่อความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ และปริมาณเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากการหมักมีปริมาณสูงขึ้น จนถึงจุดๆ หนึ่ง แล้วค่อยๆ ลดลงมา เมื่อแสดงในลักษณะของกราฟโครงร่าง จะเห็นความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของแอลกอฮอล์และปริมาณเชื้อแบคทีเรีย ส่งผลต่อปริมาณกรดอะซิติกจากการหมักมีลักษณะไม่เป็นเส้นตรง ดังรูปที่ 9 (ง) โดยที่เส้นโค้งตรงกลาง (แถบพื้นที่สีส้มเข้ม) แสดงถึงปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากการหมักสูงสุดมีค่าร้อยละ 2.95 โดยปริมาตร ส่วนเส้นโค้งถัดออกมา (แถบพื้นที่สีส้ม เหลือง เขียว ฟ้า ตามลำดับ) จะแสดงถึงปริมาณกรดอะซิติกที่เริ่มลดลง คือ ร้อยละ 2.68, 2.41, 2.14 และ 1.87 โดยปริมาตร ตามลำดับ การลดลงของกรดอะซิติกเนื่องมาจากเชื้อแบคทีเรียสามารถเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติกในสภาพที่มีออกซิเจนที่อุณหภูมิ 15- 34 องศาสเซลเซียส และเมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้นจะทำให้ปริมาณกรดซิติกลดลง ซึ่งเกิดจากเกิดการออกซิเดชั่นเกิน (Over-Oxidation) เป็นผลทำให้กรดอะซิติกเปลี่ยนเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ โดยเชื้อที่มีความเข้มข้นต่ำ จะใช้เวลาในการหมักนาน



ภาพที่ 9 กราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนอง (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ และปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ในการหมัก โดยกำหนดให้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ใช้คงที่ต่อปริมาณกรดอะซิติก กราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนอง (ค) และกราฟโครงร่าง (ง) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ และปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการหมัก โดยกำหนดให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้คงที่ต่อปริมาณกรดอะซิติก กราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนอง (ก) และกราฟโครงร่าง (ข) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกลูโคสที่ใช้ และปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการหมัก โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์คงที่ต่อปริมาณกรดอะซิติก

จากกราฟสามมิติพื้นที่ผิวตอบสนองของปริมาณกรดอะซิติกจากกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ ในภาพที่ 9 (จ) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกลูโคสและปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการหมัก โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์คงที่ พบว่า เมื่อปริมาณกลูโคสและปริมาณเชื้อแบคทีเรียเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากการหมักมีปริมาณสูงขึ้น จนถึงจุดๆ หนึ่ง แล้วค่อยๆ ลดลงมา เมื่อแสดงในลักษณะของกราฟโครงร่าง จะเห็นความสัมพันธ์ของปริมาณกลูโคส และปริมาณเชื้อแบคทีเรียส่งผลต่อปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากการหมักมีลักษณะไม่เป็นเส้นตรง ดังรูปที่ 9 (ฉ) โดยที่เส้นโค้งตรงกลาง (แถบพื้นที่สีส้ม) แสดงถึงปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากการหมักสูงสุดมีค่าร้อยละ 2.66 โดยปริมาตร ส่วนเส้นโค้งถัดออกมา (แถบพื้นที่สีเหลือง เขียว ฟ้า ตามลำดับ) จะแสดงถึงปริมาณกรดอะซิติกที่เริ่มลดลง คือ ร้อยละ 2.28, 1.90, 1.52 และ 1.14 โดยปริมาตร ตามลำดับ

จากตารางที่ 8 พบว่าผลการทำนายสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดอะซิติกสูงสุดในระหว่างกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจากเนื้อผลกาแฟ จากปัจจัยในการสกัดทั้ง 3 ปัจจัยดังกล่าวข้างต้น พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากแบบจำลอง คือ ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ร้อยละ 8.21 โดยปริมาตร ปริมาณน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 11.93 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปริมาณเชื้อแบคทีเรียร้อยละ 10.30 โดยปริมาตร มีผลทำให้ปริมาณกรดอะซิติกสูงสุดอยู่ที่ร้อยละ 2.91 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับสภาวะที่เหมาะสมจากการคำนวณและค่าจากสภาวะการทดลองจริง (ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ร้อยละ 8 โดยปริมาตร ปริมาณน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 12 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปริมาณเชื้อแบคทีเรียร้อยละ 10 โดยปริมาตร ซึ่งมีปริมาณกรดอะซิติกที่ใกล้เคียงกัน คือ ร้อยละ 2.88 และ 2.99 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ (ชุติมณฑน์ และคณะ, 2553) ที่ได้รายงานไว้ว่าอิทธิพลความเข้มข้นของเอทานอลมีผลต่อการผลิตกระบวนการผลิตกรด โดยส่วนใหญ่แล้วความเข้มข้นของเอทานอลจะอยู่ในช่วงร้อยละ 8-12 และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ (จุฑามาศ, 2551) ที่ได้ทำการวิจัยเกี่ยวกับการผลิตน้ำส้มสายชูจากสาโท พบว่าที่ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่ร้อยละ 8 ให้ผลการผลิตกรดในปริมาณสูงที่สุด คือร้อยละ 0.70 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งจะแตกต่างจากงานวิจัยของ (ชญาณ์พิสุทธิ์ และคณะ, 2555) ที่ได้ทำการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักเพื่อสุขภาพจากน้ำเชื่อมเปลือกสับปะรด โดยการปรับความเข้มข้นของเอทานอลเริ่มต้นเป็นร้อยละ 4 (ปริมาตร/ปริมาตร) ในขั้นตอนกระบวนการหมักเพื่อให้ได้กรดอะซิติก โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* TISTR 102 และ *A. aceti* TISTR 103 ส่งผลให้มีปริมาณกรดอะซิติกสูงสุดอยู่ที่ร้อยละ 3.8 และ 3.2 ตามลำดับ และยังมีงานวิจัยของ (ประวีณา และคณะ, 2544) ที่ทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียวดำกล้อง โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 ด้วยวิธีการเขย่าให้อากาศ เป็นเวลา 3 วัน จะได้น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียวดำที่มีปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 5.48 นอกจากนี้ยัง

สอดคล้องกับงานวิจัยของ (Liuwei *et al.*, 2017) ที่ได้ทำการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากพุทราจีน โดยใช้ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* ร้อยละ 10 โดยปริมาตร

ตารางที่ 8 การเปรียบเทียบปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากการทดลอง และจากสมการทำนายสภาวะที่เหมาะสมของแบบจำลอง

	ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ (%) : X_1	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (% w/v) : X_2	ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย (%) : X_3	ปริมาณกรดอะซิติก (%) : Y
สภาวะที่เหมาะสม (จากแบบจำลอง)	8.21	11.93	10.30	2.91
สภาวะที่เหมาะสม (จากการทดลองจริง)	8	12	10	2.99±0.18

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดอะซิติกสูงสุดในระหว่างกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจากเนื้อผลกาแฟที่ได้จากสภาวะการทดลองจริงนี้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ที่ 229.40 $\pm$ 0.882 mgGAE/gDW ซึ่งมีความสอดคล้องกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH) อยู่ที่ร้อยละ 38.21 $\pm$ 0.745 นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Liu *et al.*, 2016) . ซึ่งรายงานว่าเนื้อผลกาแฟ (coffee pulp) เป็นหนึ่งในแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ (ชุติมณฑน์ และคณะ, 2553) ที่ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านออกซิเดชั่นในรูปของปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol content: TPC) ของผลกาแฟทั้งผล พบว่าเมล็ดกาแฟ (1.42 %) มีค่า TPC ในรูปของกรดแกลลิก (% gallic acid) ต่อน้ำหนักแห้งสูงที่สุด รองลงมาคือ เนื้อผลกาแฟที่ได้จากโรงงาน (1.22 %) ผลกาแฟ (1.18 %) และเนื้อผลกาแฟสด (0.96 %) ตามลำดับ โดยเนื้อผลกาแฟที่ได้จากโรงงาน มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชั่นที่วิเคราะห์โดยวิธี DPPH (1,212,621 ไมโครโมล โทรล็อก (trolox) ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟที่ได้พบว่ามีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ที่ 3.40 $\pm$ 0.02 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดอยู่ที่ 4 องศาบริกซ์ ปริมาณแอลกอฮอล์อยู่ระหว่างร้อยละ 0.1-0.2 โดยปริมาตร ซึ่งมีความสอดคล้องกับประกาศกระทรวงสาธารณะสุขฉบับที่ 204 เรื่องน้ำส้มสายชูโดยให้มีแอลกอฮอล์ตกค้าง (Residual alcohol) ไม่เกินร้อยละ 0.5 และมีค่าสี ได้แก่ ค่าความสว่าง (L*) = 0.80$\pm$0.05 ค่าความเป็นสีแดง (a*) =

0.68±0.02 และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) = 0.50±0.05 โดยตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟที่ได้มีสีน้ำตาลดำ ซึ่งเป็นไปตามสีของวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการวิจัย

เทคนิคการใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศในการระเหยน้ำส้มสายชูเป็นบัลซามิกเนื้อผลกาแฟ

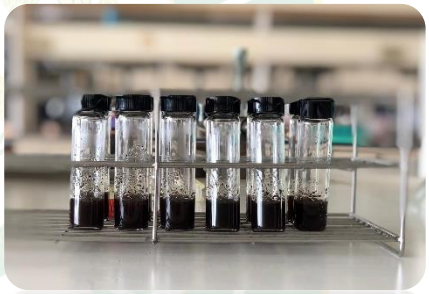
หลังจากที่ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ และทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระด้วยการออกแบบการทดลองพื้นที่ผิวตอบสนองแบบ Box-Behken Design (BBD) พบว่า สภาวะภายใต้สภาวะที่แอลกอฮอล์ร้อยละ 8 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 10 และปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ร้อยละ 10 เป็นสภาวะที่ส่งผลทำให้มีปริมาณกรดอะซิติก ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่าสูงที่สุด ดังนั้นจึงได้ทำการเลือกสภาวะดังกล่าวมาทำการระเหยน้ำเพื่อเพิ่มอัตราการระเหยน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์บัลซามิกที่ได้มีความข้นเหนียวและมีสีเข้มขึ้นตามมาตรฐานที่กำหนด ด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (vacuum evaporator) ขนาด 1 ลิตร ดังแสดงในภาพที่ 10 โดยทำการระเหยที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างมีปริมาณกรดอะซิติกอยู่ที่ร้อยละ 6-8 โดยให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (ค่า pH) น้อยกว่า 4.6 ตามประกาศ (กระทรวงสาธารณสุข, 2562) เรื่องวิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหารในภาชนะบรรจุปิดสนิทที่มีความเป็นกรดต่ำและชนิดที่ปรับกรด

ภาพที่ 10 การระเหยน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ

เทคนิคอัลตร้าโซนิกส์ในการสกัดสารโอ๊คแลคโตนจากผงไม้โอ๊คในการพัฒนากระบวนการบ่มบัลซามิกเนื้อผลกาแฟ

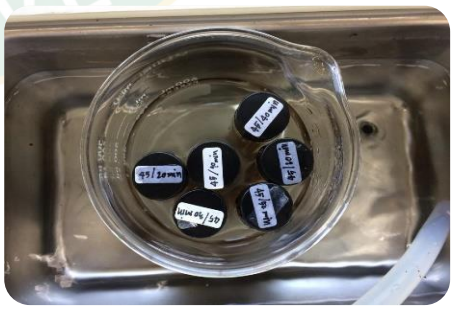
นำน้ำส้มสายชูหมักที่ได้จากการกลั่นระเหยแบบสุญญากาศตามมาตรฐานที่กำหนดมาเป็นตัวทำละลายสำหรับการสกัดสารสำคัญจากผงไม้โอ๊ค โดยใช้อัตราส่วนผงไม้โอ๊คต่อน้ำส้มสายชู 7 กรัมต่อ 1 ลิตร (Sánchez-Palomo *et.al*., 2017) สกัดด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิกส์ที่ความถี่ 28 kHz เป็นเวลานาน 30 นาที เนื่องจากหลังจากนาทีที่ 30 เป็นต้นไป จะมีกลิ่นอโรม่าของไม้โอ๊คฉุนเกินไป ไม่เหมาะสำหรับผลิตภัณฑ์ของเรา จากนั้นทำการกรองผงไม้โอ๊คออก เพื่อรอการวิเคราะห์สารสกัดจากผงไม้โอ๊คโดยใช้เครื่อง Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) และการทำสูตรส่วนผสมและทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค (Sensory evaluation) ของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

(ก)

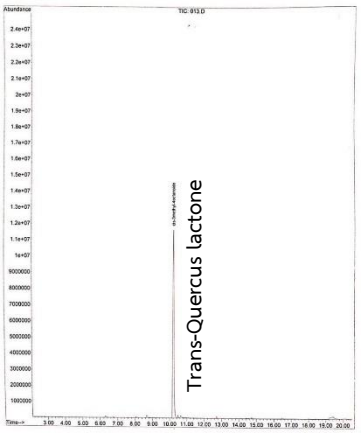


(ข)

(ค)



(ง)



(จ) (ฉ)

ภาพที่ 11 แสดงขั้นตอนการสกัดสารสำคัญจากผงไม้โอ๊คด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิกส์ (ก) ผงไม้โอ๊ค (ข) ใส่ตัวทำละลายในผงไม้โอ๊ค (ค) เครื่องอัลตร้าโซนิกส์ (ง) การสกัดสาร Trans-Quercus lactone (จ) เครื่อง GC (ฉ) โครมาโทแกรมการวิเคราะห์สารสกัดไม้โอ๊ค

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

เนื่องจากการทำผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ มีจุดประสงค์เพื่อต้องการให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีค่าความพึงพอใจต่อการรับประทาน คือ ลักษณะทั่วไป สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม จากนั้นจะทำการทดสอบถึงเหตุผลที่มีต่อการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภค ได้แก่ ความแปลกใหม่ มีประโยชน์ต่อสุขภาพ รสชาติอร่อย และสีสันสวยงาม

การทดลองเพื่อหาสูตรที่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ (ตารางที่ 9) โดยการออกแบบการทดลองแบบผสม จำนวน 9 สูตร แล้วทำการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสพบว่า ส่วนผสมสูตรที่ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุด คือ สูตรที่ 3 ซึ่งประกอบด้วย กาแฟสกัดเย็น 20 เปอร์เซ็นต์: น้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ 80 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 9 ตารางแสดงส่วนผสมของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ (ร้อยละ)

สูตรที่	น้ำกาแฟสกัดเย็น	น้ำส้มสายชู
1	0.00	100.00
2	40.00	60.00
3	20.00	80.00
4	29.92	70.08
5	10.08	89.92
6	34.96	65.04
7	5.04	94.96
8	15.09	84.91
9	24.80	75.20

จากการสำรวจผู้บริโภคจำนวน 60 คน โดยเป็นการสอบถามความต้องการของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ โดยให้ผู้บริโภคทำการเลือกผลิตภัณฑ์ 9 สูตร โดยเรียงลำดับความพึงพอใจ 1 - 5 (1 คือ ต้องปรับปรุง 2.คือ ไม่ชอบ 3 คือพอใจ 4 คือชอบ และ 5 คือชอบมาก) โดยประเมิน 5 คุณลักษณะ ลักษณะทั่วไป สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม ผลการทดสอบพบว่าสูตรที่ 3 เป็นสูตรที่ผู้บริโภคชอบมากที่สุด ได้คะแนนเฉลี่ยรวม 3.45 ลำดับต่อมาคือ สูตรที่ 9 ได้คะแนนเฉลี่ยรวม 3.11 และสูตรที่ 4 ได้คะแนนเฉลี่ยรวม 2.97 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดงคะแนนความพึงพอใจเฉลี่ยรวมของผู้บริโภคสำหรับผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4	สูตรที่ 5	สูตรที่ 6	สูตรที่ 7	สูตรที่ 8	สูตรที่ 9
คะแนน	2.32	2.58	3.45	2.97	2.57	2.51	2.23	2.33	3.11

เมื่อทดสอบถึงเหตุผลที่มีต่อการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟของผู้บริโภค (ตารางที่ 11) เพื่อนำไปเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์โดยเรียงเหตุผลตามลำดับความต้องการ 1-4 (1 คือเหตุผลที่สำคัญที่สุด และ 4 คือเหตุผลที่สำคัญน้อยที่สุด) พบว่าเหตุผลที่มีผู้ตอบแบบสอบถามเลือกเป็นลำดับที่ 1 มากที่สุด คือ ผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ (ร้อยละ

60) รองลงมาคือผลิตภัณฑ์มีความแปลกใหม่ (ร้อยละ 35) ลำดับต่อมาคือผลิตภัณฑ์มีรสชาติอร่อย (ร้อยละ 25) ลำดับสุดท้ายที่มีผู้เลือกคือ ผลิตภัณฑ์ที่มีสีสันสวยงาม (ร้อยละ 15) จึงถือได้ว่า เรื่องของสีสันสวยงามของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟนั้น ผู้บริโภคให้ความสำคัญเป็นลำดับสุดท้ายในทั้งหมด 4 เหตุผลที่ส่งผลต่อการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

ตารางที่ 11 การสำรวจลำดับความสำคัญของเหตุผลที่จะมีต่อการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

เหตุผล	ลำดับความชอบ (ร้อยละ)			
	ลำดับ 1	ลำดับ 2	ลำดับ 3	ลำดับ 4
1. ความแปลกใหม่	35	25	25	15
2. มีประโยชน์ต่อสุขภาพ	60	17	13	10
3. รสชาติอร่อย	25	40	20	15
4. สีสันสวยงาม	15	15	30	40

การศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ ได้สูตรที่ 3 ที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุด นำมาทำการศึกษาจลนพลศาสตร์และความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพื่อดูอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกัน ได้แก่ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการตรวจสอบสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ เพื่อดูความคงตัวของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ และทำการศึกษาอัตราปฏิกิริยาการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

1. อิทธิพลจลนพลศาสตร์ของความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

จากการศึกษาพบว่าผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 35 และ 45 องศาเซลเซียส ตั้งแต่สองสัปดาห์ขึ้นไป มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลงแตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05) เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นอาจมีผลทำให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ตารางที่ 12 อิทธิพลจลนพลศาสตร์และความค่าคงตัวที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ระยะเวลาการจัดเก็บ (สัปดาห์)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง)		
	25 องศาเซลเซียส	35 องศาเซลเซียส	45 องศาเซลเซียส
0	$571.92^{a} \pm 0.481$	$571.92^{a} \pm 0.431$	$571.92^{a} \pm 0.658$
2	$564.82^{b} \pm 0.750$	$561.77^{b} \pm 0.962$	$559.31^{b} \pm 0.806$
4	$560.82^{c} \pm 0.643$	$558.10^{c} \pm 0.177$	$547.30^{c} \pm 0.629$
6	$559.78^{c} \pm 0.481$	$543.85^{d} \pm 0.509$	$538.94^{d} \pm 0.594$
8	$548.00^{d} \pm 0.325$	$541.32^{e} \pm 0.764$	$530.31^{e} \pm 0.792$
10	$542.12^{e} \pm 0.742$	$539.08^{f} \pm 0.771$	$526.94^{f} \pm 0.537$

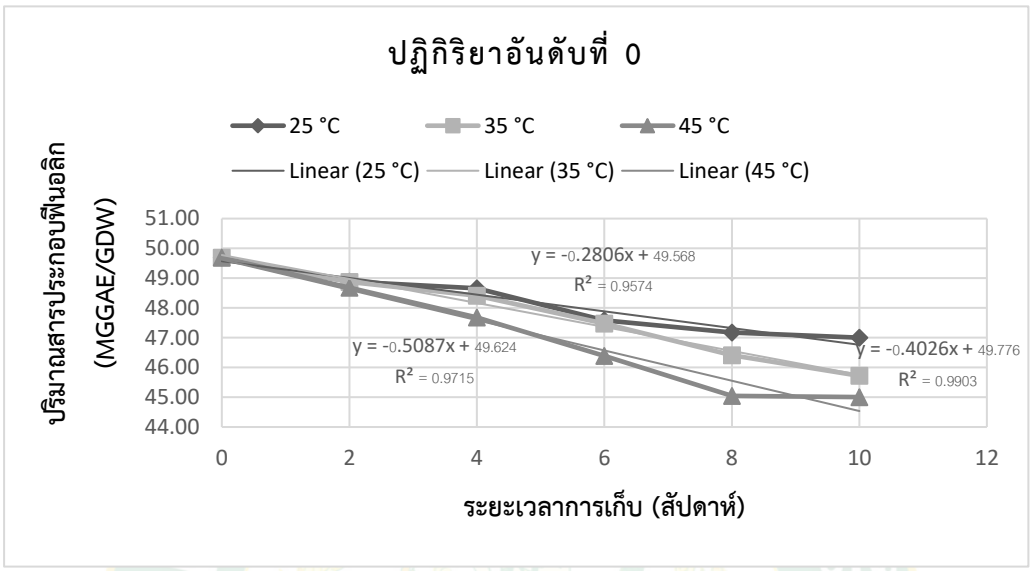
หมายเหตุ: 1. ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
2. ตัวอักษรกำกับท้ายตัวเลขที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. ผลการประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟในสภาวะเร่งโดยใช้ปฏิกิริยาทางจลนพลศาสตร์สำหรับสารประกอบฟีนอกลิกทั้งหมด

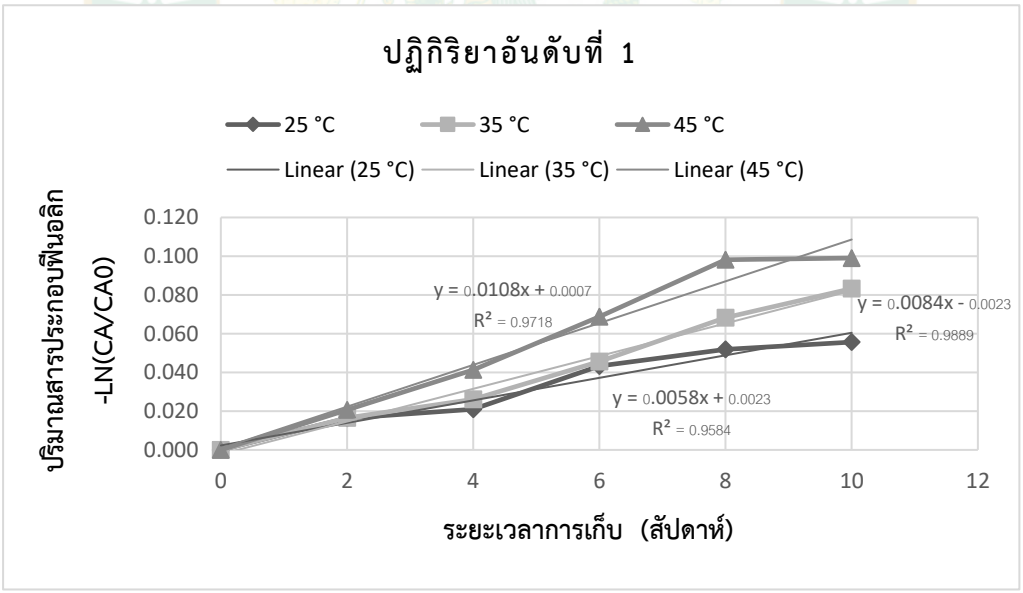
นำผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่ได้จากการยอมรับของผู้บริโภคมาประเมินอายุการเก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) และในสภาวะเร่ง โดยเก็บไว้ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 และ45 องศาเซลเซียส แล้วเก็บข้อมูลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดที่แสดงถึงความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกโดยเก็บข้อมูลทุกๆ 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

เมื่อนำข้อมูลมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดกับเวลาเพื่อหาอันดับของปฏิกิริยา ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ พบว่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกกับระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เนื่องจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ln ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด กับเวลาการเก็บรักษา (t) มีลักษณะเป็นเส้นตรง ซึ่งค่า R^2 ที่ได้มีค่าไม่แตกต่างจากปฏิกิริยาอันดับสองมากนัก ดังแสดงในภาพที่ 12 ดังนั้นจึงเลือกใช้ปฏิกิริยาอันดับหนึ่งเนื่องจากนิยมใช้ในการในการเปลี่ยนแปลงของ

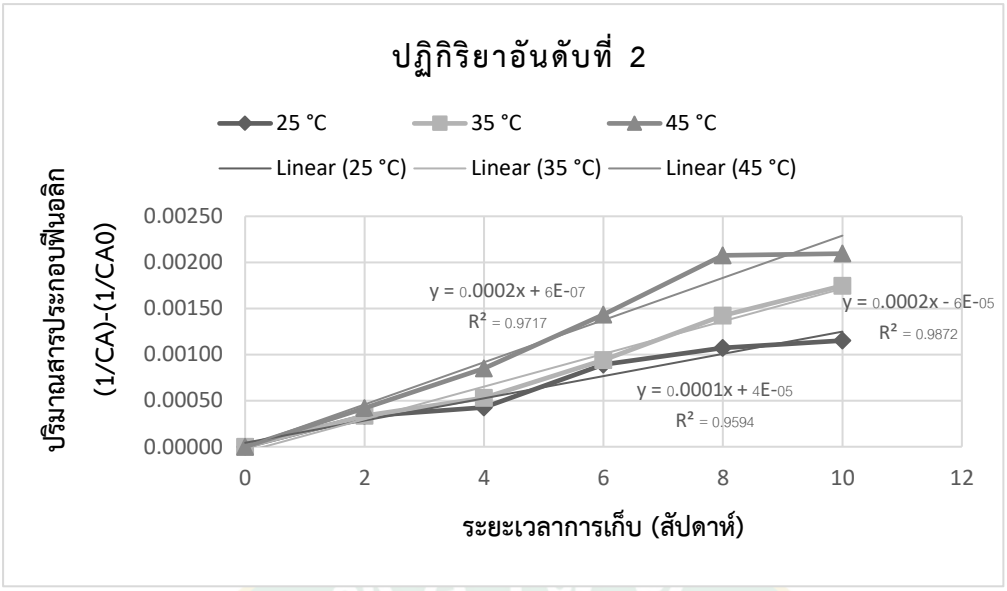
ปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น การสูญเสียวิตามิน การเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ และการสลายตัวของสารสำคัญภายในผลิตภัณฑ์ (คงวุฒิ, 2549)



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 12 แสดงปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (ก) ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ข) และปฏิกิริยาอันดับสอง (ค) ของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 13 แสดงความคงตัวและอายุการเก็บรักษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ ที่อุณหภูมิ 25 35 และ 45 องศาเซลเซียส

Storage condition	Order	R^2	Rate constant k x 10^{-3}	Half-life $t_{1/2}$	Phenolic compounds (%)
25 องศาเซลเซียส (หลังจาก 10 สัปดาห์)	1	0.9499	5.35 ($สัปดาห์^{-1}$)	129.51 (สัปดาห์)	94.79
35 องศาเซลเซียส (หลังจาก 10 สัปดาห์)	1	0.9411	5.91 ($สัปดาห์^{-1}$)	117.20 (สัปดาห์)	94.26
45 องศาเซลเซียส (หลังจาก 10 สัปดาห์)	1	0.9738	8.19 ($สัปดาห์^{-1}$)	84.62 (สัปดาห์)	92.14

จากตารางที่ 13 สามารถอธิบายได้ว่าผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส มีค่าครึ่งชีวิต (Half-life) อยู่ที่ 129.51, 117.20 และ 84.62

สัปดาห์ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแปรผกผันกับอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บ โดยเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงขึ้น จะทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดต่ำลง เนื่องจากสลายตัวของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดระหว่างการเก็บรักษา ดังนั้นผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟในงานวิจัยนี้สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ได้ประมาณ 1-2 ปี โดยไม่ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสลายไป และจากตารางสามารถอธิบายเพิ่มเติมได้ว่าค่าความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ มีค่าความคงตัวมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์

3. อิทธิพลจลนพลศาสตร์ของความคงตัวของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

จากการศึกษาพบว่าผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 35 และ 45 องศาเซลเซียส ตั้งแต่สองสัปดาห์ขึ้นไป มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นอาจมีผลทำให้เกิดการสลายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 14 อิทธิพลจลนพลศาสตร์และความค่าคงตัวที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ระยะเวลาการจัดเก็บ (สัปดาห์)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ)		
	25 องศาเซลเซียส	35 องศาเซลเซียส	45 องศาเซลเซียส
0	$49.69^{a} \pm 0.184$	$49.69^{a} \pm 0.184$	$49.69^{a} \pm 0.184$
2	$48.88^{b} \pm 0.354$	$48.88^{ab} \pm 0.035$	$48.68^{ab} \pm 0.785$
4	$48.66^{b} \pm 0.141$	$48.41^{bc} \pm 0.368$	$47.68^{bc} \pm 0.226$
6	$47.59^{c} \pm 0.078$	$47.48^{c} \pm 0.078$	$46.39^{c} \pm 0.049$
8	$47.18^{cd} \pm 0.106$	$46.41^{d} \pm 0.651$	$45.05^{d} \pm 0.021$
10	$47.00^{d} \pm 0.028$	$45.72^{d} \pm 0.566$	$45.01^{d} \pm 0.163$

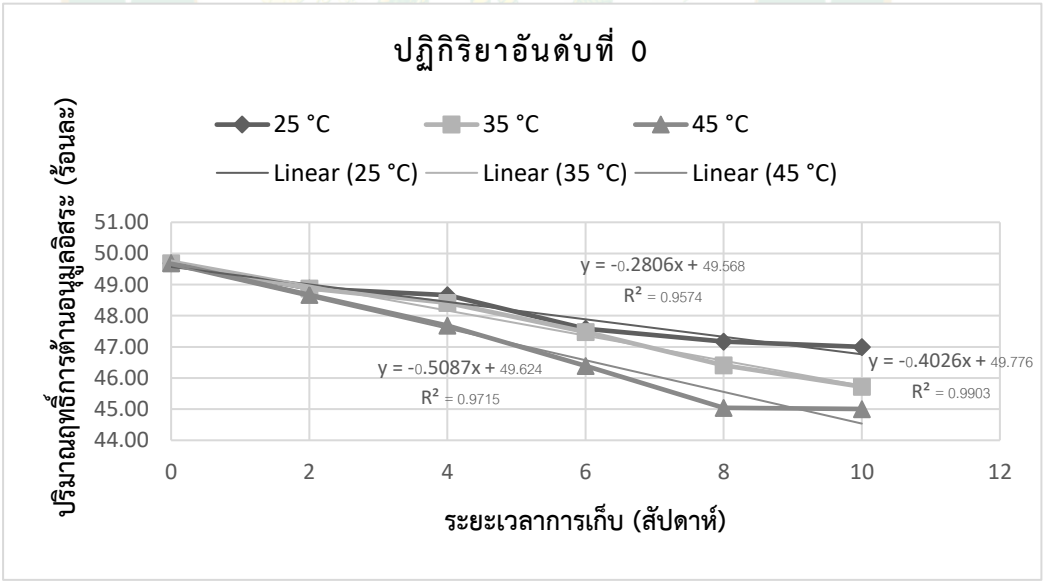
หมายเหตุ: 1. ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2. ตัวอักษรกำกับท้ายตัวเลขที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

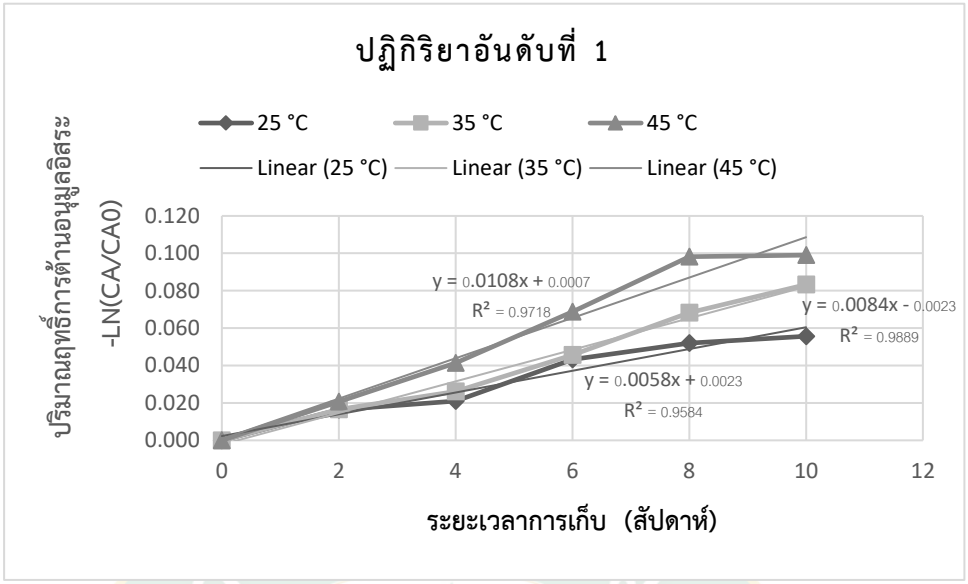
4. ผลการประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟในสภาวะเร่งโดยใช้ปฏิกิริยาทางจลนพลศาสตร์สำหรับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

นำผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่ได้จากการยอมรับของผู้บริโภคมาประเมินอายุการเก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) และในสภาวะเร่ง โดยเก็บไว้ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 และ45 องศาเซลเซียส แล้วเก็บข้อมูลฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดที่แสดงถึงความคงตัวของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยเก็บข้อมูลทุกๆ 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

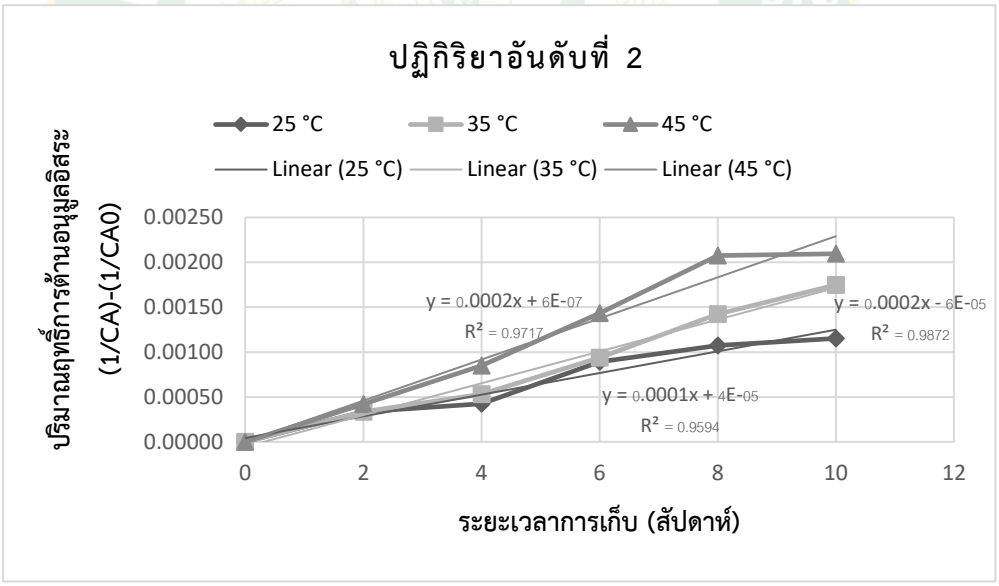
เมื่อนำข้อมูลมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ ระหว่างฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระกับเวลาเพื่อหาอันดับของปฏิกิริยา ผลการวิเคราะห์ข้อมูลจากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ พบว่าการเปลี่ยนแปลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระกับระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เนื่องจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ln กับเวลาการเก็บรักษา (t) มีลักษณะเป็นเส้นตรง ซึ่งค่า R^2 ที่ได้มีค่าไม่แตกต่างจากปฏิกิริยาอันดับสองมากนัก ดังแสดงในภาพที่ 13 ดังนั้นจึงเลือกใช้ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เนื่องจากนิยมใช้ในการในการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น การสูญเสียวิตามิน การเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ และการสลายตัวของสารสำคัญภายในผลิตภัณฑ์ (คงวุฒิ, 2549)



(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 13 แสดงปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (ก) ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ข) และปฏิกิริยาอันดับสอง (ค) ของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่อุณหภูมิ 25 35 และ 45 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 15 แสดงความคงตัวและอายุการเก็บรักษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ ที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส

Storage condition	Order	R^2	Rate constant k x 10-3	Half-life t1/2	DPPH (%)
25 องศาเซลเซียส (หลังจาก 10 สัปดาห์)	1	0.9584	5.57 (สัปดาห์-1)	124.54 (สัปดาห์)	94.59
35 องศาเซลเซียส (หลังจาก 10 สัปดาห์)	1	0.9889	8.32 (สัปดาห์-1)	83.24 (สัปดาห์)	92.01
45 องศาเซลเซียส (หลังจาก 10 สัปดาห์)	1	0.9781	9.90 (สัปดาห์-1)	69.99 (สัปดาห์)	90.57

จากตารางที่ 15 สามารถอธิบายได้ว่าผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส มีค่าครึ่งชีวิต (Half-life) อยู่ที่ 124.54, 83.24 และ 69.99 สัปดาห์ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระแปรผกผันกับอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บ โดยเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงขึ้น จะทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดต่ำลง เนื่องจากสลายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างการเก็บรักษา ดังนั้นผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟในงานวิจัยนี้สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ได้ประมาณ 1-2 ปี และจากตารางสามารถอธิบายเพิ่มเติมได้ว่าค่าความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ มีค่าความคงตัวมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์

การตรวจวิเคราะห์ทางเคมี ทางกายภาพ และทางจุลชีววิทยของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

1. การตรวจวิเคราะห์ทางเคมี

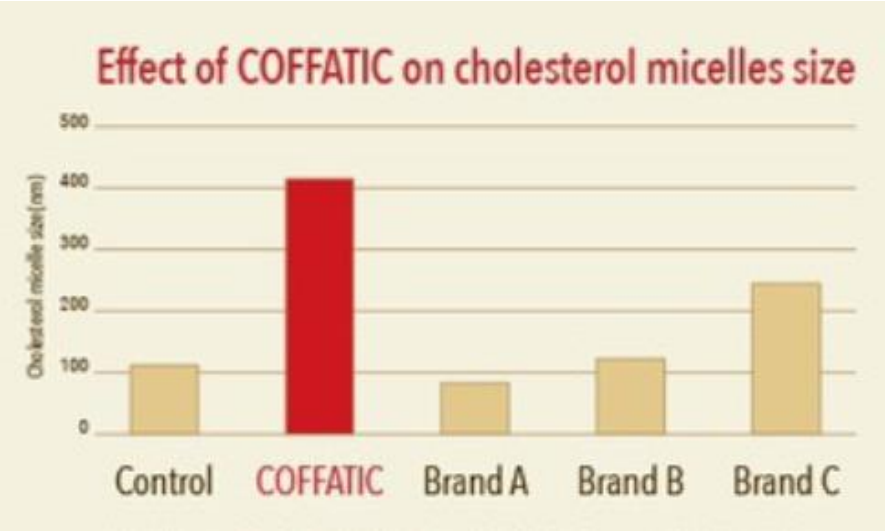
จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ พบว่ามีปริมาณกรดอะซิติกสูงสุดเฉลี่ยประมาณร้อยละ 3 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเฉลี่ยอยู่ที่ 4 องศาบริกซ์ มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เฉลี่ยเท่ากับ 3.40 ปริมาณแอลกอฮอล์อยู่ระหว่างร้อยละ 0.1-0.2 โดยปริมาตร มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ยเท่ากับ 229.40 mg_{GAE}/g_{DW} ซึ่งมีความสอดคล้องกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH) เฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 38.21 (ตารางที่ 16)

สำหรับคุณสมบัติทางเคมีของบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่ได้ พบว่าภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่ได้จากสภาวะการทดลองจริงนี้ มีปริมาณกรดอะซิติกอยู่ที่ร้อยละ 6-8 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเฉลี่ยเท่ากับ 10 องศาบริกซ์ มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เฉลี่ยอยู่ที่ 3.47 ไม่พบปริมาณแอลกอฮอล์ตกค้าง นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ยอยู่ที่ 571.92 mg_{GAE}/250 ml. ซึ่งมีความสอดคล้องกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH) เฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 49.69 (ตารางที่ 16)

ตารางที่ 16 การเปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มสายชูหมักและบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

คุณสมบัติทางเคมี	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากเนื้อผลกาแฟ	
	น้ำส้มสายชูหมัก	บัลซามิก
ปริมาณกรดอะซิติกทั้งหมด (%)	3.0	6.0-8.0
มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (^{o}Brix)	4.0	10.0
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	3.40	3.47
ปริมาณแอลกอฮอล์ (%)	0.1-0.2	0
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (mg_{GAE}/g_{DW})	229.40	571.92
การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (%)	38.21	49.69

นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟยังได้มีการทดสอบในหนูทดลอง พบว่าในตัวผลิตภัณฑ์มีสารสำคัญคือ กรดคลอโรจีนิกที่อยู่ในเนื้อผลกาแฟ ซึ่งสารสำคัญนี้จะมีผลทำให้คลอเรสเตอรอล หรือไขมันที่เรารับประทานเข้าไปมีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้ไม่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย แต่จะถูกขับออกแทน ถือได้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสำหรับคนรักสุขภาพอย่างยิ่ง นอกจากนี้เรายังได้ทำการเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟกับแบรนด์อื่นๆ ตามท้องตลาด ดังแสดงในภาพที่ 14 จะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์บัลซามิกนั้นส่งผลทำให้ขนาดของไขมันมีขนาดใหญ่ที่สุด แสดงว่าผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟมีผลลดคอเลสเตอรอลในหลอดทดลองและในร่างกายผ่านการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลในลำไส้และรบกวนการก่อตัวของไมโครเซลล์ที่ซับซ้อน ดังนั้นผลิตภัณฑ์นี้ถือได้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อป้องกันโรคอ้วนที่เกิดจากภาวะไขมันผิดปกติและภาวะดื้อต่ออินซูลินได้ด้วยเช่นกัน (Atcharaporn *et al.,* 2019)



ภาพที่ 14 ผลการยับยั้งของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟต่อการดูดซึมคอเลสเตอรอลผ่านการเพิ่มขนาดไมเซลล์ก่อนการดูดซึม เทียบกับแบรนด์อื่นๆ ตามท้องตลาด

2. การตรวจวิเคราะห์ทางกายภาพ

เนื่องจากผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ในท้องตลาด จึงจำเป็นต้องมีการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เพื่อเปรียบเทียบกับบัลซามิกที่เป็นที่นิยมในท้องตลาด โดยผู้วิจัยได้เลือกมา 3 แบรนด์ที่เป็นที่นิยมสำหรับผู้บริโภค ดังแสดงในภาพที่ 14 โดยการใช้เครื่องวัดสี ยี่ห้อ Hunter Lab วัดคุณลักษณะด้านสีของน้ำส้มสายชูหมักและบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟและเปรียบเทียบกับสีของบัลซามิกจากองุ่นที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด ซึ่งทำมาจากองุ่น ค่าที่วัดได้เป็นค่าความสว่าง (L*) ค่าความเป็นสีแดง (a*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b*) ได้ผลดังตารางที่ 17

ตารางที่ 17 การวัดค่าสีของน้ำส้มสายชูหมักและบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟเปรียบเทียบกับสีของบัลซามิกจากองุ่นที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด (ยี่ห้อ A B และ C)

ค่าสี	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์				
	น้ำส้มสายชูหมัก เนื้อผลกาแฟ	บัลซามิก เนื้อผลกาแฟ	บัลซามิก ยี่ห้อ A	บัลซามิก ยี่ห้อ B	บัลซามิก ยี่ห้อ C
L*	0.80	3.38	0.21	1.74	0.19
a*	0.68	2.42	-0.02	0.87	0.01
b*	0.50	3.56	0.07	1.39	-0.01

จากผลการเปรียบเทียบสีของบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟกับสีของบัลซามิกที่จำหน่ายตามท้องตลาดอีก 3 ยี่ห้อ (ยี่ห้อ A B และ C) ดังแสดงในตารางที่ 17 และ ภาพที่ 15 (ก-จ) พบว่า บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟมีค่า L* a* และ b* มากที่สุด คือ = 3.38, 2.42 และ 3.56 ตามลำดับ โดยตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟที่ได้มีสีน้ำตาลดำ ซึ่งเป็นไปตามสีของวัตถุดิบเนื้อผลกาแฟที่นำมาใช้ในการวิจัยที่มีสีเหลืองน้ำตาลคล้ายสีของน้ำตาลเคี่ยวหรือคาราเมล

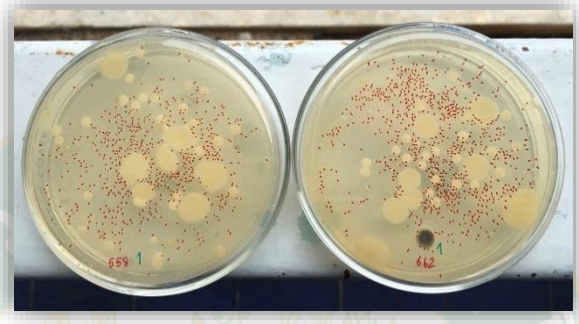
(ก) (ข)

(ค) (ง) (จ)

ภาพที่ 15 แสดงคุณลักษณะของการเปรียบเทียบสีของ (ก) น้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ (ข) บัลซามิกจากเนื้อ ผลกาแฟกับสีของบัลซามิกจากองุ่นที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด (ค) ยี่ห้อ A (ง) ยี่ห้อ B และ (จ) ยี่ห้อ C

3. การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ พบว่าที่ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ใช้ร้อยละ 8 ปริมาณกลูโคสที่ใช้ร้อยละ 12 และ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ร้อยละ 10 ส่งผลให้มีกรดอะซิติกสูงสุดอยู่ที่ ร้อยละ 2.99 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และมีปริมาณเซลล์เฉลี่ยอยู่ที่ 0.61 x 10^{3} โคโลนีต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 16 การตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *Acetobacter pasteurianus* TISTR 102 ในน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ

คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

จากผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ (ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ) ปริมาณสุทธิ 250 มิลลิลิตร พบว่า ผลิตภัณฑ์นี้ 1 ช้อนโต๊ะ ให้พลังงานต่ำ คือ 15 กิโลแคลอรี ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 2.1 กรัม (1%) และปริมาณน้ำตาล 2.1 กรัม (1%) ต่อหนึ่งหน่วยบริโภค ดังแสดงในตารางที่ 18 และ 19

ตารางที่ 18 แสดงคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟฉบับภาษาไทย

ข้อมูลโภชนาการ		
ปริมาณสุทธิ : 250 มิลลิลิตร		
หนึ่งหน่วยบริโภค : 1 ช้อนโต๊ะ (15 มิลลิลิตร)		
จำนวนหน่วยบริโภคต่อขวด : 17		
คุณค่าทางโภชนาการต่อหนึ่งหน่วยบริโภค		
พลังงานทั้งหมด 15 กิโลแคลอรี		
		ร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน*
ไขมันทั้งหมด	0 ก.	**0%**
โปรตีน	0 ก.	
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	2.1 ก.	**1%**
น้ำตาล	2.1 ก.	
โซเดียม	0 มก.	**0%**
* ร้อยละของปริมาณสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคต่อวันสำหรับคนไทยอายุตั้งแต่ 6 ปีขึ้นไป (Thai RDI) โดยคิดจากความต้องการพลังงานวันละ 2,000 กิโลแคลอรี		

ตารางที่ 19 แสดงคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟฉบับภาษาอังกฤษ

ข้อมูลโภชนาการ

Volume Net : 250 ml

Serving Size : 1 tbsp (15 ml)

Serving per container : 17

Amount Per Serving

Calories 15 kcal

		% Daily Value*
Total Fat	0 g	**0%**
Protein	0 g	
Total Carbohydrate	2.1 g	**0%**
Sugar	**2.**1 g	
Sodium	0 mg	**0%**

*Percent Thai Recommended Daily Intakes for population over 6 years of age are based on a 2,000 kcal diet.

การวิเคราะห์สารปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

ผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่ได้ นำมาวิเคราะห์คุณลักษณะปริมาณสารปนเปื้อน ได้แก่ สารหนู ตะกั่ว ทองแดง สังกะสี มีค่าน้อยกว่า 1 mg/L ซึ่งมีปริมาณไม่เกินปริมาณที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด และไม่พบกรดกำมะถันหรือกรดแร่อิสระ ดังแสดงในตารางที่ 20

ตารางที่ 20 แสดงปริมาณสารปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
สารหนู (As)	0.13	mg/kg	-	-In - house method TE-CH-260 In connection with: -AOAC (2016) 2013.06 -AOAC (2016) 999.10
ทองแดง (Cu)	0.38	mg/kg	-	-In - house method TE-CH-260 In connection with: -AOAC (2016) 2013.06 -AOAC (2016) 999.10
เหล็ก (Fe)	1.47	mg/kg	-	-In – house method TE-CH-170 based on AOAC (2016) 984.27 and 999.10
ตะกั่ว (Pb)	0.029	mg/kg	-	In - house method TE-CH-260 In connection with: -AOAC (2016) 2013.06 -AOAC (2016) 999.10

ต้นแบบของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

ผลิตภัณฑ์ COFFATIC : น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ ที่ได้สูตรตามความต้องการของผู้บริโภคแล้วให้กับทางบริษัทฯ เพื่อช่วยในการทำบรรจุภัณฑ์ต้นแบบของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

ภาพที่ 17 ผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

1. สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดอะซิติกสูงสุดในระหว่างกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจากเนื้อผลกาแฟ จากปัจจัยในการสกัดทั้ง 3 ปัจจัยดังกล่าวข้างต้น พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดจากแบบจำลอง คือ ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ร้อยละ 8.21 โดยปริมาตร ปริมาณน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 11.93 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปริมาณเชื้อแบคทีเรียร้อยละ 10.30 โดยปริมาตร มีผลทำให้ปริมาณกรดอะซิติกสูงสุดอยู่ที่ร้อยละ 2.91 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับสภาวะที่เหมาะสมจากการคำนวณและค่าจากสภาวะการทดลองจริง (ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ร้อยละ 8 โดยปริมาตร ปริมาณน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 12 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และปริมาณเชื้อแบคทีเรียร้อยละ 10 โดยปริมาตร ซึ่งมีปริมาณกรดอะซิติกที่ใกล้เคียงกัน คือ ร้อยละ 2.88 และ 2.99 ตามลำดับ นอกจากนี้ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดอะซิติกสูงสุดในระหว่างกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจากเนื้อผลกาแฟที่ได้จากสภาวะการทดลองจริงนี้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ที่ 229.40 $\pm$ 0.882 mg_{GAE}/250 ml. ซึ่งมีความสอดคล้องกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH) อยู่ที่ร้อยละ 38.21 $\pm$ 0.745

2. น้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟจากหัวข้อ 1 ถูกนำมาทำการระเหยน้ำเพื่อเพิ่มอัตราการระเหยน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์บัลซามิกที่ได้มีความข้นเหนียวและมีสีเข้มขึ้นตามมาตรฐานที่กำหนด ด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (vacuum evaporator) ขนาด 1 ลิตร โดยทำการระเหยที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างมีปริมาณกรดอะซิติกอยู่ที่ร้อยละ 6 โดยให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (ค่า pH) น้อยกว่า 4.6 ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 349)

จากนั้นนำน้ำส้มสายชูหมักที่ได้จากการกลั่นระเหยแบบสุญญากาศตามมาตรฐานที่กำหนดมาเป็นตัวทำลายสำหรับการสกัดสารสำคัญจากผงไม้โอ๊ค โดยใช้อัตราส่วนผงไม้โอ๊คต่อน้ำส้มสายชู 7 กรัม ต่อ 1 ลิตร สกัดด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิกส์ที่ความถี่ 28 kHz เป็นเวลานาน 30 นาที

3. คุณสมบัติทางเคมีของบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่ได้ พบว่าภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟที่ได้จากสภาวะการทดลองจริงนี้ มีปริมาณกรดอะซิติกอยู่ที่ร้อยละ 6-8 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเฉลี่ยเท่ากับ 10 องศาบริกซ์ มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เฉลี่ยอยู่ที่ 3.47 ไม่พบปริมาณแอลกอฮอล์ตกค้าง นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ยอยู่ที่ 571.92 mg_{GAE}/250 ml. ซึ่งมีความสอดคล้องกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ค่าร้อยละของ

การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH) เฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 49.69 นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟยังมีผลลดคอเลสเตอรอลในหลอดทดลองและในร่างกายผ่านการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลในลำไส้และรบกวนการก่อตัวของไมโครเซลล์ที่ซับซ้อน ดังนั้นผลิตภัณฑ์นี้ถือได้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อป้องกันโรคอ้วนที่เกิดจากภาวะไขมันผิดปกติและภาวะดื้อต่ออินซูลินได้ด้วยเช่นกัน

4. คุณสมบัติทางกายภาพค่าสีของบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟกับสีของบัลซามิกที่จำหน่ายตามท้องตลาดอีก 3 ยี่ห้อ (ยี่ห้อ A B และ C) ดังแสดงในตารางที่ 17 และ ภาพที่ 15 (ก-จ) พบว่า บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟมีค่า L* a* และ b* มากที่สุด คือ = 3.38, 2.42 และ 3.56 ตามลำดับ โดยตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟที่ได้มีสีน้ำตาลดำ ซึ่งเป็นไปตามสีของวัตถุดิบเนื้อผลกาแฟที่นำมาใช้ในการวิจัยที่มีสีเหลืองน้ำตาลคล้ายสีของน้ำตาลเคี่ยวหรือคาราเมล

5. จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ พบว่าที่ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ใช้ร้อยละ 8 ปริมาณกลูโคสที่ใช้ร้อยละ 12 และ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ร้อยละ 10 ส่งผลให้มีกรดอะซิติกสูงสุดอยู่ที่ ร้อยละ 2.99 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และมีปริมาณเซลล์เฉลี่ยอยู่ที่ 0.61×10^{3} โคโลนีต่อมิลลิลิตร

6. การทดสอบทางประสาทสัมผัสหรือการยอมรับจากผู้บริโภคเพื่อหาสูตรที่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ โดยการออกแบบการทดลองแบบผสม จำนวน 9 สูตร จากการประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส พบว่า ส่วนผสมสูตรที่ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุด คือ สูตรที่ 3 ซึ่งประกอบด้วย กาแฟสกัดเย็น 20 เปอร์เซ็นต์: น้ำส้มสายชูหมักจากเนื้อผลกาแฟ 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดสอบถึงเหตุผลที่มีต่อการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟของผู้บริโภค เพื่อนำไปเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์โดยเรียงเหตุผลตามลำดับความต้องการ 1-4 (1 คือเหตุผลที่สำคัญที่สุด และ 4 คือเหตุผลที่สำคัญน้อยที่สุด) พบว่าเหตุผลที่มีผู้ตอบแบบสอบถามเลือกเป็นลำดับที่ 1 มากที่สุด คือ ผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ (ร้อยละ 60) รองลงมาคือผลิตภัณฑ์มีความแปลกใหม่ (ร้อยละ 35) ลำดับต่อมาคือผลิตภัณฑ์มีรสชาติอร่อย (ร้อยละ 25) ลำดับสุดท้ายที่มีผู้เลือกคือ ผลิตภัณฑ์ที่มีสีสันสวยงาม (ร้อยละ 15) จึงถือได้ว่า เรื่องของสีสันสวยงามของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟนั้น ผู้บริโภคให้ความสำคัญเป็นลำดับสุดท้ายในทั้งหมด 4 เหตุผลที่ส่งผลต่อการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

7. ผลิตภัณฑ์ COFFATIC : น้ำส้มสายชูบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ ที่ได้ทำการประเมินอายุการเก็บรักษาในสภาวะเร่งโดยใช้ปฏิกิริยาทางจลนพลศาสตร์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าครึ่งชีวิต (Half-life) อยู่ที่ 129.51, 117.20 และ 84.62 สัปดาห์ ตามลำดับ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ มีค่าครึ่งชีวิต (Half-life)

อยู่ที่ 124.54, 83.24 และ 69.99 สัปดาห์ ตามลำดับ ดังนั้นผลิตภัณฑ์จากงานวิจัยนี้สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ได้ประมาณ 1-2 ปี โดยไม่ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสลายไป และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ ผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟยังมีค่าความคงตัวมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์

8. การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์บัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ ปริมาณสุทธิ 250 มิลลิลิตร พบว่า ผลิตภัณฑ์นี้ 1 ช้อนโต๊ะ ให้พลังงานต่ำ คือ 15 กิโลแคลอรี ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 2.1 กรัม (1%) และปริมาณน้ำตาล 2.1 กรัม (1%) ต่อหนึ่งหน่วยบริโภค และจากการวิเคราะห์คุณลักษณะปริมาณสารปนเปื้อน ได้แก่ สารหนู ตะกั่ว ทองแดง สังกะสี มีค่าน้อยกว่า 1 mg/L ซึ่งมีปริมาณไม่เกินปริมาณที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด และไม่พบกรดกำมะถันหรือกรดแร่อิสระ ดังแสดงในตารางที่ 20

ปัญหาที่พบ

1. วัตถุดิบในการทดลองการเตรียมน้ำส้มสายชูหมัก พบว่าเนื้อผลกาแฟที่ได้มาในแต่ละครั้งมีความเข้มข้น ปริมาณสารสำคัญ และมีความหนืดไม่เท่ากัน ทำให้ผลการหมักใช้ระยะเวลาที่แตกต่างกันไป ดังนั้นจึงมีการทำตัวอย่างหลายครั้งเพื่อทำการเก็บข้อมูลและทำการหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักต่างๆ ทำให้ใช้เวลาในการศึกษานานพอสมควรเกี่ยวกับการผลิตน้ำส้มสายชูหมักและบัลซามิกจากเนื้อผลกาแฟ

2. เนื่องจากทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ พบว่าในช่วงฤดูหนาวจะใช้เวลาในการหมักนานกว่าฤดูร้อน

ข้อเสนอแนะ

1. ในการทดลองครั้งต่อๆ ไป ควรมีการควบคุมและตรวจสอบคุณภาพของวัตถุดิบตั้งต้นให้เหมือนหรือใกล้เคียงกันทุกครั้ง

2. ควรใช้ถังหมักที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้

มหาวิทยาลัยแม่โจ้
MAEJO UNIVERSITY

บรรณานุกรม

Carol S. Johnston, Samantha Quagliano and Serena White. 2013. Vinegar ingestion at mealtime reduced fasting blood glucose concentrations in healthy adults at risk for type 2 diabetes. **Journal of Functional Foods**,5(4), 2007-2011.

Giulia Papotti, Davide Bertelli, Riccardo Graziosi, Annalisa Maietti, Paola Tedeschi, Andrea Marchetti and Maria Plessi. 2015. Traditional balsamic vinegar and balsamic vinegar of Modena analyzed by nuclear magnetic resonance spectroscopy coupled with multivariate data analysis. **LWT-Food Science and Technology**,60(2), 1017-1024.

Ignacio de Ory, Luis E. Romero and Domingo Cantero. 2004. Optimization of immobilization conditions for vinegar production. Siran, wood chips and polyurethane foam as carriers for Acetobacter aceti. **Process Biochemistry**,39(5), 547-555.

Jiyuan Liu, Jing Gan, Yongjian Yu, Shenghu Zhu, Lijun Yin และYongqiang Cheng. 2016. Effect of laboratory-scale decoction on the antioxidative activity of Zhenjiang Aromatic Vinegar: The contribution of melanoidins. **Journal of Functional Foods**,21, (75-86).

Lipp M, Radovic B.S. and Anklam E. 1998. Characterisation of vinegar by pyrolysis-mass spectrometry. **Food Control**, 9(6), 349-355.

Liuwei Zhao, Fengmao Liu, Liming Wu, Xiaofeng Xue and Fan Hou. 2017. Fate of triadimefon and its metabolite triadimenol in jujube samples during jujube wine and vinegar processing. **Food Control,** 73 (468-473)

Murthy P.S. and Naidu M.M. 2010. Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-products. **Food Bioprocess Technology**, DOI: 10.1007/s11947-010-0363-z (1-7).

NescafeDolceGustoThailand. (2017). โรบัสต้า VS อาราบิก้า เรื่องเล่าในเมล็ดกาแฟ...เดียวกัน.

Onanong Kaisoon, Sirithon Siriamornpun, Natthida Weerapreeyakul and Naret Meeso. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. **Journal of functional foods**, 3(2), 88-99.

Ontawong A., Duangjai A., Muanprasat C., Pasachan T., Pongchaidecha A., Amornlerdpison D. and Srimaroeng, C. 2019. Lipid-lowering effects of *Coffea* arabica pulp aqueous extract in Caco-2 cells and hypercholesterolemic rats. **Phytomedicine**,52, (187-197).

Pinelo M., Tress A.G., Pedersen M., Arnous A. and Meyer A.S. 2007. Effect of Cellulases, Solvent Type and Particle Size Distribution on the Extraction of Chlorogenic Acid and Other Phenols from Spent Coffee Grounds. **American Journal of Food Technology**,2, 641-651.

Qi Z., Dong D., Yang H. and Xia X. 2017. Improving fermented quality of cider vinegar via rational nutrient feeding strategy. **Food Chem**,224, 312-319.

Ramirez-Martinez J.R. 2006. Phenolic Compounds in Coffee Pulp: Quantitative Determination by HPLC. **Science of Food and Agriculture**,43 (135-144).

Sánchez-Palomo E., Alonso-Villegas R., Delgado J. A. and González-Viñas M. A. 2017. Improvement of Verdejo white wines by contact with oak chips at different winemaking stages. **LWT - Food Science and Technology**,79, (111-118).

Shimada Kazuko, Fujikawa Kuniko, Yahara Keiko and Nakamura Takashi. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. **Journal of agricultural and food chemistry**,40(6), 945-948.

Solieri L. and Giudici P. 2008. Yeasts associated to traditional balsamic vinegar: ecological and technological features. **International journal of food microbiology**,125 (1), 36-45.

Spiller G.A. 1998. **Caffeine**. CRC Press, USA.

Stephan J Sokollek, Christian Hertel and Walter P Hamme. 1998. Cultivation and preservation of vinegar bacteria. **Journal of Biotechnology**,60(3), 195-206.

Ye Xiu Juan, Morimura Shigeru, Han Lian Shu, Shigematsu Toru and Kida Kenji. 2004. In vitro evaluation of physiological activity of vinegar produced from barley-, sweet potato-, and rice-shochu post-distillation slurry. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**,68(3), 551-556.

มหาวิทยาลัยแม่โจ้
MAEJO UNIVERSITY

มหาวิทยาลัยแม่โจ้
MAEJO UNIVERSITY

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาว นฤมล บุญมี

เกิดเมื่อ 21 กุมภาพันธ์ 2537

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2554 มัธยมศึกษาตอนปลาย
โรงเรียนพรตพิทยพยัต จังหวัดกรุงเทพมหานคร

พ.ศ. 2558 ปริญญาตรี วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิศวกรรมอาหาร
มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่