สัญญาเลขที่ R2562B038

อภินันทนาการ

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

สำนักหอสมุด

การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยและน้ำเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

Fermented vinegar production from mycelium and liquid media of *Cordyceps militaris*

คณะผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปวีนา น้อยทัพ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จตุรพร รักษ์งาร

นางสาวเพชรรุ้ง เสนานุช

คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน - 3 มี.ค. 2565
เลขทะเบียน 1099846
เลขเรียกหนังสือ ว TP 248 .A18 ป4965 2562

สนับสนุนโดย

งบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยนเรศวร

ปีงบประมาณ 2562

บทสรุปผู้บริหาร

ชื่อโครงการ การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยและน้ำเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง
Fermented vinegar production from mycelium and liquid media of *Cordyceps militaris*

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ตุลาคม 2561 – 31 กรกฎาคม 2563

ความเป็นมาของปัญหา

ถั่งเช่าสีทอง *(Cordyceps militaris)* เป็นเห็ดที่ทั่วโลกกำลังให้ความสนใจในการบริโภคเห็ดเป็นยา เนื่องจากกระแสการบริโภคเห็ดถั่งเช่าแท้หรือถั่งเช่าทิเบต (*Cordyceps sinensis*) ที่หายากและมีราคาแพง ในขณะที่ถั่งเช่าสีทองซึ่งเป็นเห็ดในตระกูลเดียวกับถั่งเช่าแท้ สามารถเพาะเลี้ยงทั้งดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดได้ในห้องควบคุมที่อุณหภูมิเครื่องปรับอากาศได้ตลอดทั้งปี ถั่งเช่าสีทองเป็นเห็ดที่มีส่วนประกอบของสารอาหาร วิตามิน เกลือแร่ และฤทธิ์ทางยาหลายชนิดสูงกว่าเห็ดถั่งเช่าแท้ ทำให้มีการเพาะเลี้ยงกันเป็นธุรกิจ นักวิจัยมีความพยายามหาวิธีกระตุ้นให้เห็ดถั่งเช่าสร้างสารออกฤทธิ์ได้เร็วขึ้นในพื้นที่จำกัด โดยการเพาะเลี้ยงเป็นเส้นใยเห็ด (mycelium) ในอาหารเหลว ซึ่งจะใช้ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงสั้นกว่า และลดความเสี่ยงในการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น เมื่อเทียบกับการเลี้ยงจนเป็นดอกเห็ดอย่างที่นิยมเลี้ยงกันในปัจจุบัน แต่เส้นใยเห็ดที่ได้ก็ยังคงมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญเช่นเดียวกับในดอกเห็ด

น้ำส้มสายชูหมัก (fermented vinegar) เป็นน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักวัตถุดิบประเภทแป้งหรือน้ำตาลด้วยเชื้อจุลินทรีย์ มีคุณค่าทางโภชนาการ มีสีและกลิ่นรสตามวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลายโดยเฉพาะในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพอีกชนิดหนึ่งที่สามารถบริโภคได้ทุกเพศทุกวัย น้ำส้มสายชูหมักมีประโยชน์หลายด้าน เช่น ช่วยลดระดับการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลกลูโคสและอินซูลินหลังการรับประทานอาหาร ทำให้ลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบาหวาน ช่วยลดค่าดัชนีไกลซีมิก ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของหนูทดลอง และมีผลต่อการลดน้ำหนักเนื่องจากช่วยลดความอยากอาหาร เป็นต้น

จากการศึกษาของคณะผู้วิจัย โครงการวิจัย การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลวด้วยธัญพืชต่างชนิด งบประมาณรายได้มหาวิทยาลัยนเรศวร พ.ศ. 2559 และได้ยื่นจดอนุสิทธิบัตรตามเลขที่คำขอ 1703001293 เรื่อง การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลวด้วยธัญพืชต่างชนิด พบว่า เส้นใยถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวมีปริมาณสารคอร์ไดซิปินและอะดีโนซีนในปริมาณสูง ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่อาหารเหลวที่เหลือหลังจากเก็บเกี่ยวเส้นใยเห็ดถั่งเช่าแล้ว ยังคงมีสารอาหารโดยเฉพาะสารคอร์ไดซิปิน อะดีโนซีน คาร์โบไฮเดรต และเส้นใยถั่งเช่าบางส่วนหลงเหลืออยู่ ซึ่งอาหารเหลวดังกล่าวยังคงมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักเป็นน้ำส้มสายชูเพื่อสุขภาพ และเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ แทนที่จะทิ้งไปเป็นของเหลือ

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทอง และน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง โดยหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์และการผลิตกรดอะซิติก ที่ยังคงมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระในระหว่างกระบวนการหมัก เพื่อให้ได้น้ำส้มสายชูที่มีประโยชน์ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากโครงการนี้สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพชนิดอื่นๆ ได้อีกมาก เช่น เครื่องดื่มผสมน้ำส้มสายชูหมักรสชาติต่างๆ น้ำส้มสายชูผง หรือน้ำส้มสายชูผงอัดเม็ด หรือใช้ในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของน้ำส้มสายชู เป็นต้น

วัตถุประสงค์

เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักเพื่อสุขภาพจากถั่งเช่าสีทอง เป็นการเพิ่มมูลค่าและแนวทางการใช้ประโยชน์จากถั่งเช่าสีทอง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อ

1. ศึกษาคุณภาพของวัตถุดิบเห็ดถั่งเช่าสีทองในการผลิตเป็นน้ำส้มสายชูหมัก
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์จากเห็ดถั่งเช่าสีทอง
3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติกจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง
4. ศึกษาคุณภาพน้ำส้มสายชูหมักจากเห็ดถั่งเช่าสีทองตามมาตรฐาน

ผลการทดลอง

1. การศึกษาคุณภาพของวัตถุดิบ ได้แก่ น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง มีค่าพีเอช 6.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 2 °Brix คอร์ไดซิปิน 6,240.10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 431.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 20.78 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 87.61 ส่วนเส้นใยถั่งเช่าสีทอง มีค่าพีเอช 6.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 1.5 °Brix คอร์ไดซิปิน 7,600.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 393.36 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 11.60 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 48.90

2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์ พบว่า น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทองสามารถนำมาหมักให้เป็นไวน์ได้ ซึ่ง AlcLiq60 (น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่า : น้ำสับปะรด = 60 : 40) และ AlcMyc60 (เส้นใยถั่งเช่า : น้ำสับปะรด = 60 : 40) สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงกว่าทุกสูตร คือร้อยละ 12.17 และ 12.57 ที่ระยะเวลาการหมัก 15 วัน AlcLiq60 มีคอร์ไดซิปิน 128.87 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 50.13 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 42.93 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 75.80 ส่วน AlcMyc60 มีคอร์ไดซิปิน 291.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 64.13 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1.11 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 42.93

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติก พบว่า น้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง AceLiq6 (น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าที่มีแอลกอฮอล์ 6%) และน้ำหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทอง AceMyc6 (เส้นใยถั่งเช่าที่มีแอลกอฮอล์ 6%) ให้ปริมาณกรดอะซิติกสูงสุด คือร้อยละ 5.43 และ 5.52 เมื่อสิ้นสุดการหมัก 18 วัน โดยใช้ปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้นต่ำสุดคือร้อยละ 6 ซึ่ง AceMyc6 และ AceLiq6 สามารถนำมาหมักให้เป็นน้ำส้มสายชูหมักได้โดยมีปริมาณกรดอะซิติกสูงกว่าค่ามาตรฐานน้ำส้มสายชูหมักที่กำหนดไว้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 4 นอกจากนี้ยังมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำส้มสายชูหมักทางการค้า โดยมีคอร์ไดซิปิน 48.5 และ 65.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และอะดีโนซีน 2.3 และ 7.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 2.0 และ 1.8 mg GAE/mL และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 78.8 และ 69.2 เมื่อเทียบกับน้ำส้มสายชูหมักทางการค้าจากแอปเปิล องุ่น และข้าว ที่มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1.4, 0.6 และ 0.2 mg GAE/mL และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 53.4, 25.1 และ 8.5

4. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำส้มสายชูหมักตามมาตรฐาน พบว่าน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง มีปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 5.65 และ 5.43 ปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 0.17 และตรวจไม่พบสารปนเปื้อน ได้แก่ สารหนู ตะกั่ว ทองแดง สังกะสี และกรดกำมะถัน ส่วนเหล็กพบ 1.81 และ 0.72 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งทุกลักษณะทดสอบอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนที่กำหนดไว้

ผลลัพธ์ของโครงการ

1. ได้ลักษณะคุณภาพของวัตถุดิบเห็ดถั่งเช่าสีทองในการผลิตเป็นน้ำส้มสายชูหมัก
2. ได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์จากเห็ดถั่งเช่าสีทอง
3. ได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติกจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง
4. ได้น้ำส้มสายชูหมักจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีคุณภาพตามมาตรฐาน
5. ได้ต้นแบบเทคโนโลยีการผลิต
   - กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง
   - กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทอง
6. ได้ต้นแบบผลิตภัณฑ์
   - ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง
   - ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทอง
7. ยื่นขอรับอนุสิทธิบัตร
   - คำขอเลขที่ 2003000692 เรื่อง สูตรและกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง
   - คำขอเลขที่ 2003000693 เรื่อง สูตรและกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง "การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยและน้ำเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง" ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยนเรศวร ประจำปีงบประมาณ 2562 งานวิจัยนี้ประสบผลสำเร็จตามวัตถุประสงค์ได้ด้วยดี ทางคณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยมา ณ โอกาสนี้ด้วย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทดลองตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการวิจัย

ขอน้อมรำลึกถึงพระคุณของสมเด็จพระนเรศวรมหาราชที่ได้ให้แผ่นดินแห่งนี้ อันก่อเกิดมหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ซึ่งเหล่าผู้วิจัยจักได้นำความรู้ความสามารถมารับใช้แผ่นดินต่อไป

คณะผู้วิจัย

กรกฎาคม 2563

บทคัดย่อ

อาหารเหลวที่เหลือจากการเก็บเกี่ยวเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองแล้ว ยังคงมีสารอาหารและเส้นใยเห็ดถั่งเช่าบางส่วนหลงเหลืออยู่ จึงยังคงมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทอง (Myc) และน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง (Liq) โดย ตอนที่ 1) ศึกษาคุณภาพของวัตถุดิบ พบว่า Liq มีค่าพีเอช 6.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 2 องศาบริกซ์ คอร์ไดซิปิน 6,240.10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 431.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 20.78 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 87.61 ส่วน Myc มีค่าพีเอช 6.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 1.5 องศาบริกซ์ คอร์ไดซิปิน 7,600.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 393.36 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 11.60 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 48.90 ตอนที่ 2) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์ พบว่า น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่า : น้ำสับปะรด = 60 : 40 (AlcLiq60) และ เส้นใยถั่งเช่า : น้ำสับปะรด = 60 : 40 (AlcMyc60) สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงกว่าทุกสูตร คือร้อยละ 12.17 และ 12.57 ที่ระยะเวลาการหมัก 15 วัน AlcLiq60 มีคอร์ไดซิปิน 128.87 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 50.13 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 42.93 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 75.80 ส่วน AlcMyc60 มีคอร์ไดซิปิน 291.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 64.13 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1.11 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 42.93 ตอนที่ 3) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติก พบว่า น้ำหมักน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าที่มีแอลกอฮอล์ 6% (AceLiq6) และน้ำหมักเส้นใยถั่งเช่าที่มีแอลกอฮอล์ 6% ให้ปริมาณกรดอะซิติกสูงสุด คือร้อยละ 5.43 และ 5.52 เมื่อสิ้นสุดการหมัก 18 วัน มีคอร์ไดซิปิน 48.5 และ 65.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 2.3 และ 7.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 2.0 และ 1.8 mg GAE/mL และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 78.8 และ 69.2 โดยมีสารออกฤทธิ์สูงกว่าน้ำส้มสายชูหมักทางการค้าจากแอปเปิล องุ่น และข้าว ที่มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1.4, 0.6 และ 0.2 mg GAE/mL และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 53.4, 25.1 และ 8.5 และ ตอนที่ 4) วิเคราะห์คุณภาพน้ำส้มสายชูหมักตามมาตรฐาน พบว่า AceLiq6 และ AceMyc6 มีปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 5.65 และ 5.43 ปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 0.17 และตรวจไม่พบสารปนเปื้อน ได้แก่ สารหนู ตะกั่ว ทองแดง สังกะสี และกรดกำมะถัน ส่วนเหล็กพบ 1.81 และ 0.72 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งทุกลักษณะทดสอบอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนที่กำหนดไว้

คำสำคัญ: ถั่งเช่าสีทอง น้ำส้มสายชู กรดอะซิติก คอร์ไดซิปิน ต้านอนุมูลอิสระ

ABSTRACT

Liquid culture media left over from *Cordyceps militaris* harvesting still has some nutrients and mycelium. Therefore, it still has potential to be used as raw material for fermented vinegar production. The objectives of this research are to develop fermented vinegar from *C. militaris* mycelium (Myc) and *C. militaris* liquid media (Liq) as; Part 1) study on the quality of raw materials. It was found that Liq had pH 6.5, total soluble solid (TSS) 2 °Brix, cordycepin 6,240.10 mg/kg, adenosine 431.20 mg/kg, total phenolic compounds (TPC) 20.78 mg GAE/mL and DPPH scavenging activity 87.61%. While Myc had pH 6.3, TSS 1.5 °Brix, cordycepin 7,600.20 mg/kg, adenosine 393.36 mg/kg, TPC 11.60 mg GAE/mL and DPPH scavenging activity 48.9%. Part 2) study on the appropriate conditions for alcohol production. It was found that Liq : pineapple juice = 60 : 40 (AlcLiq60) and Myc : pineapple juice = 60 : 40 (AlcMyc60) produced the highest alcohol content, 12.17% and 12.57% after 15 days fermentation. AlcLiq60 had 128.87 mg/kg of cordycepin, adenosine 50.13 mg/kg, TPC 42.93 mg GAE/mL and DPPH scavenging activity 75.80%. AlcMyc60 had 291.20 mg/kg of cordycepin, adenosine 64.13 mg/kg, TPC 1.11 mg GAE/mL and DPPH scavenging activity 42.93. Part 3) study on the appropriate conditions for acetic acid production. It was found that Liq with 6% alcohol (AceLiq6) and Myc with 6% alcohol (AceMyc6) produced the highest acetic acid content, 5.43% and 5.52% after 18 days fermentation. AceLiq6 and AceMyc6 contained 48.5 and 65.2 mg/kg, adenosine 2.3 and 7.0 mg/kg, TPC 2.0 and 1.8 mg GAE/mL and DPPH antioxidant activity 78.8% and 69.2%, respectively, which had higher active compounds than commercial fermented vinegar from apple, grape and rice that contained TPC 1.4, 0.6 and 0.2 mg GAE/mL and DPPH antioxidant activity 53.4%, 25.1% and 8.5%, respectively. And Part 4) analyze the quality of fermented vinegar. It was found that AceLiq6 and AceMyc6 had 5.65% and 5.43% acetic acid, 0.17% alcohol, no contaminant of arsenic, lead, copper, zinc, and sulfuric acid. Iron was found 1.81 and 0.72 mg/kg, respectively. All of quality factors were reach the criteria defined by community product standard.

Keywords: *Cordyceps militaris*, vinegar, acetic acid, cordycepin, antioxidant

สารบัญ

		หน้า
บทที่ 1	**บทนำ**	**1**
	ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
	กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	2
	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2	**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	**3**
	เห็ดถั่งเช่า	3
	ส่วนประกอบของถั่งเช่า	3
	สรรพคุณของถั่งเช่า	4
	น้ำส้มสายชู	5
	กลไกการผลิตน้ำส้มสายชู	6
	ปัจจัยสำคัญที่มีผลในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู	7
	มาตรฐานของน้ำส้มสายชู	8
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
บทที่ 3	**วิธีดำเนินการวิจัย**	**15**
	วัตถุดิบ	15
	วิธีการทดลอง	15
	สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง	18
บทที่ 4	**ผลการทดลองและอภิปรายผล**	**19**
	ตอนที่ 1 การศึกษาคุณภาพของวัตถุดิบ	19
	ตอนที่ 2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์	20
	ตอนที่ 3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติก	25
	ตอนที่ 4 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำส้มสายชูหมักตามมาตรฐาน	28
บทที่ 5	**สรุป**	**29**
บรรณานุกรม		**30**
ภาคผนวก		**34**
	ก วิธีการวิเคราะห์	34
	ข ต้นแบบเทคโนโลยีการผลิต	38
	ค ต้นแบบผลิตภัณฑ์	43
	ง มาตรฐานน้ำส้มสายชู	45
	จ คำขออนุสิทธิบัตร	48

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อกรัม) ของสารประกอบในเห็ดถั่งเช่าที่ได้จากวิธีการเพาะและแหล่งที่มาต่างกัน	4
2	สรรพคุณของถั่งเช่าสีทอง	5
3	คุณภาพวัตถุดิบน้ำเพาะเลี้ยงและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง และน้ำเพาะเลี้ยงและเส้นใยถั่งเช่าสีทองเจือจาง	19
4	ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระ ของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง	25
5	ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระ ของน้ำส้มสายชูหมักจากถั่งเช่าสีทองและน้ำส้มสายชูหมักทางการค้า	27
6	คุณภาพน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทองตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน น้ำส้มสายชูหมัก	28

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
1	วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษา: น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง	15
2	ปริมาณแอลกอฮอล์ของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 15 วัน	21
3	ปริมาณแอลกอฮอล์ของน้ำหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 15 วัน	21
4	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 15 วัน	23
5	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 15 วัน	23
6	ค่า pH ของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 15 วัน	24
7	ค่า pH ของน้ำหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 15 วัน	24
8	ปริมาณแอลกอฮอล์ของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 18 วัน	26
9	ปริมาณกรดอะซิติกของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 18 วัน	26
10	ค่า pH ของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 18 วัน	27

บทที่ 1
บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ถั่งเช่าสีทอง *(Cordyceps militaris)* เป็นเห็ดที่ทั่วโลกกำลังให้ความสนใจในการบริโภคเห็ดเป็นยา เนื่องจากกระแสการบริโภคเห็ดถั่งเช่าแท้หรือถั่งเช่าทิเบต (*Cordyceps sinensis*) ที่หายากและมีราคาแพง ในขณะที่ถั่งเช่าสีทองซึ่งเป็นเห็ดในตระกลูเดียวกับถั่งเช่าแท้ เจริญได้ทั่วไปที่อุณหภูมิ 10 – 28 องศาเซลเซียส จึงสามารถเพาะเลี้ยงทั้งดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดได้ในห้องควบคุมที่อุณหภูมิเครื่องปรับอากาศได้ตลอดทั้งปี ถั่งเช่าสีทองเป็นเห็ดที่มีส่วนประกอบของสารอาหาร วิตามิน เกลือแร่ และฤทธิ์ทางยาหลายชนิดสูงกว่าเห็ดถั่งเช่าแท้ (อานนท์, 2558) ทำให้มีการเพาะเลี้ยงกันเป็นธุรกิจ ทำให้นักวิจัยมีความพยายามหาวิธีกระตุ้นให้เห็ดถั่งเช่าสร้างสารออกฤทธิ์ได้เร็วขึ้นในพื้นที่จำกัด โดยการเพาะเลี้ยงเป็นเส้นใยเห็ด (mycelium) ในอาหารเหลว ซึ่งจะใช้ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงสั้นกว่า และลดความเสี่ยงในการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น เมื่อเทียบกับการเลี้ยงจนเป็นดอกเห็ดอย่างที่นิยมเลี้ยงกันในปัจจุบัน แต่เส้นใยเห็ดที่ได้ก็ยังคงมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญเช่นเดียวกับในดอกเห็ด

น้ำส้มสายชูหมัก (fermented vinegar) เป็นน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักวัตถุดิบประเภทแป้งหรือน้ำตาลด้วยเชื้อจุลินทรีย์ มีคุณค่าทางโภชนาการ มีสีและกลิ่นรสตามวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลายโดยเฉพาะในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพอีกชนิดหนึ่งที่สามารถบริโภคได้ทุกเพศทุกวัย น้ำส้มสายชูหมักมีประโยชน์หลายด้าน เช่น ช่วยลดระดับการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลกลูโคสและอินซูลินหลังการรับประทานอาหาร ทำให้ความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบาหวานลดลง (Johnston et al., 2004) ช่วยลดค่าดัชนีไกลซีมิก (Leeman et al., 2005) ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของหนูทดลอง (Fushimi et al., 2006) และมีผลต่อการลดน้ำหนักเนื่องจากช่วยลดความอยากอาหาร (Ostman et al., 2005) เป็นต้น

จากการศึกษาของคณะผู้วิจัย ที่ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลวจากธัญพืช (โครงการวิจัย การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลวด้วยธัญพืชต่างชนิด งบประมาณรายได้มหาวิทยาลัยนเรศวร พ.ศ. 2559 และได้ยื่นจดอนุสิทธิบัตรตามเลขที่คำขอ 1703001293 เรื่อง การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลวด้วยธัญพืชต่างชนิด) พบว่า เส้นใยถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวมีปริมาณสารคอร์ไดซิปินและอะดีโนซีนในปริมาณสูง ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่อาหารเหลวที่เหลือหลังจากเก็บเกี่ยวเส้นใยเห็ดถั่งเช่าแล้ว จะยังคงมีสารอาหารโดยเฉพาะสารคอร์ไดซิปิน อะดีโนซีน คาร์โบไฮเดรต และเส้นใยถั่งเช่าบางส่วนหลงเหลืออยู่ ซึ่งอาหารเหลวดังกล่าวยังคงมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักเป็นน้ำส้มสายชูเพื่อสุขภาพ และเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ แทนที่จะทิ้งไปเป็นของเหลือ

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทอง และน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง โดยหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์และการผลิตกรดอะซิติก ที่ยังคงมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระในระหว่างกระบวนการหมัก เพื่อให้ได้น้ำส้มสายชูที่มีประโยชน์ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากโครงการนี้สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพชนิดอื่นๆ ได้อีกมาก เช่น เครื่องดื่มผสมน้ำส้มสายชูหมักรสชาติต่างๆ น้ำส้มสายชูผง หรือน้ำส้มสายชูผงอัดเม็ด หรือใช้ในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของน้ำส้มสายชู เป็นต้น

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักเพื่อสุขภาพจากถั่งเช่าสีทอง เป็นการเพิ่มมูลค่าและแนวทางการใช้ประโยชน์จากถั่งเช่าสีทอง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อ

2.1 ศึกษาคุณภาพของวัตถุดิบเห็ดถั่งเช่าสีทองในการผลิตเป็นน้ำส้มสายชูหมัก

2.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์จากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติกจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2.4 ศึกษาคุณภาพน้ำส้มสายชูหมักจากเห็ดถั่งเช่าสีทองตามมาตรฐาน

3. กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

3.1 น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง ประกอบด้วยน้ำสกัดจากมันฝรั่งและสารอาหารอื่นๆ ยังคงมีคุณค่าสารอาหารและมีเศษเส้นใยของถั่งเช่าบางส่วนหลงเหลืออยู่ ดังนั้นหากสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อื่นแทนการทิ้งให้สูญเปล่า จะเป็นการสร้างมูลค่าให้เพิ่มขึ้น

3.2 น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตอยู่สูง เหมาะสำหรับการใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก จึงสามารถนำมาเพิ่มมูลค่าให้เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพได้

3.3 น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่นเดียวกับที่พบในเส้นใยถั่งเช่าสีทอง

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

งานวิจัยนี้มีประโยชน์ในการสร้างทางเลือกและเพิ่มมูลค่า ในการนำเส้นใยและน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองที่ตามปกติจะถูกทิ้งไปโดยเปล่าประโยชน์ โดยนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพ ผู้บริโภคสามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารหรือใช้บริโภคเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ และเนื่องจากตลาดยังคงมีความต้องการผลิตภัณฑ์จากถั่งเช่าอีกมาก จึงมีศักยภาพที่จะพัฒนาจนถึงขั้นการผลิตเชิงพาณิชย์ได้ โดยมีผลงานที่ได้รับเมื่อเสร็จสิ้นโครงการ ดังนี้

4.1 ต้นแบบผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมัก 2 ชนิด ได้แก่ น้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทอง และน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง

4.2 เทคโนโลยีกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก 2 เทคโนโลยี ได้แก่ กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทอง และกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง

4.3 อนุสิทธิบัตร 2 เรื่อง ได้แก่ สูตรและกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง และสูตรและกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. เห็ดถั่งเช่า

ถั่งเช่าเป็นเชื้อรากินแมลงในกลุ่ม *Ascomycetes* มีการศึกษา รวบรวม จำแนก เพาะเลี้ยง ปรับปรุงสายพันธุ์ และผลิตเป็นการค้าในจีน เกาหลี ไต้หวัน อินเดีย สหรัฐอเมริกา มาเลเซีย และสิงค์โปร์ โดยมีการใช้เป็นสมุนไพรรักษาโรคต่างๆ และเป็นอาหารเสริมสุขภาพ

ถั่งเช่าที่รู้จักกันทั่วไป คือ ถั่งเช่าทิเบต หรือถั่งเช่าแท้ *(Ophiocordyceps sinensis* มีชื่อพ้องว่า *Cordyceps sinensis)* ขึ้นได้ในพื้นที่จำกัด บนภูเขาสูงแถบเทือกเขาหิมาลัยและในจีน รู้จักกันในชื่อภาษาจีนแต้จิ๋วว่า ถั่งเช่า หรือ หนาวเป็นหนอน ร้อนเป็นหญ้า (winter worm summer grass) เนื่องจากถั่งเช่าแท้จะต้องเก็บจากธรรมชาติ จึงทำให้มีราคาสูงมากขึ้นกับเกรดของเห็ด เป็นชนิดที่แพทย์แผนโบราณชาวจีนนิยมใช้เป็นยาอายุวัฒนะ โดยมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ คือ คอร์ไดซิปิน (cordycepin) นอกจากนี้ยังพบว่าถั่งเช่าสีทอง *(Cordyceps militaris)* ก็สามารถผลิตคอร์ไดซิปินได้เช่นกัน มีสมบัติช่วยลดคอเลสเตอรอล ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ยับยั้งเชื้อ HIV และยับยั้งเนื้องอกเช่นเดียวกับถั่งเช่าทิเบต ทำให้ถั่งเช่าสีทองเป็นที่ต้องการของตลาดอาหารเสริมสุขภาพ (อภิชาติ และอัมพา, 2556)

ถั่งเช่าสีทองสามารถเพาะเลี้ยงได้โดยใช้ตัวหนอนเพาะหรือใช้อาหารสังเคราะห์ สามารถชักนำให้เป็นดอกเห็ดได้โดยใช้อากาศเย็น ถั่งเช่าแคปซูลที่วางขายทั่วไปส่วนใหญ่เป็นถั่งเช่าสีทอง มีรายงานหลายฉบับยืนยันว่าถั่งเช่าสีทองมีคุณสมบัติเทียบเท่าถั่งเช่าทิเบต (Das et al., 2010) และมีรายงานว่าถั่งเช่าสีทองมีสารคอร์ไดซิปินและอะดีโนซีน (adenosine) สูงกว่าถั่งเช่าทิเบต การเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองทำได้ง่ายกว่าถั่งเช่าทิเบตเพราะขึ้นได้ในแมลงหลายชนิด สามารถขึ้นได้กับตัวหนอนหรือดักแด้ไหม ซึ่งมีการผลิตในทางการค้าอยู่แล้ว และต่อมาสามารถพัฒนานำเอาเมล็ดธัญพืชมาใช้เพาะแทนตัวแมลงได้ การขยายตัวของตลาดได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว มีรายงานการสำรวจการตลาดถั่งเช่าสีทองในปี 2008 โดยศูนย์ติดตามการตลาดของจีน (China Market Monitoring Center) ระบุว่าความต้องการของตลาดนานาชาติอยู่ที่ 1,000 ตันต่อปี ขณะที่ตลาดภายในจีนอยู่ที่ 500 ตัน อัตราการเจริญเติบโตของตลาดอยู่ที่ร้อยละ 13 มีผู้ผลิตในจีนประมาณ 50 ราย และมีกำลังการผลิตรวมกันประมาณ 250 ตันต่อปี

ในประเทศไทย การขายเห็ดถั่งเช่าสีทองจะขายในรูปเห็ดอบแห้ง ราคาขายกิโลกรัมละ 1.5 แสนบาท หากขายเป็นดอกสดอยู่ในขวดเพาะเลี้ยง ราคาขวดละ 700 – 800 บาท (น้ำหนักดอกสดประมาณ 2.5 กรัม) และขายในระยะที่เป็นเส้นใยไมซีเลียมนำไปทำยาบรรจุแคปซูล (อภิชาติ และอัมพา, 2556)

2. ส่วนประกอบของถั่งเช่า

จากการวิจัยทางเภสัชวิทยา พบว่า เห็ดถั่งเช่าอุดมไปด้วยสารสำคัญหลายชนิดที่มีผลทางชีวภาพ เช่น โมโนแซคคาไรด์ ไดแซคคาไรด์ โพลีแซคคาไรด์ (เบต้า – กลูแคน) แมนนิทอล กาแล็กโทส อะดีโนซีน คอร์ไดซิปิน กรดคอร์เซปิก กรดอะมิโน โปรตีน สเตอรอล วิตามิน และแร่ธาตุหลายชนิด เช่น โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก คอปเปอร์ แมงกานีส สังกะสี ฟอสฟอรัส และ ซีลีเนียม เป็นต้น

เห็ดถั่งเช่าประกอบไปด้วยนิวคลีโอไซด์ (nucleosides) มากกว่า 10 ชนิด และสารอื่นๆ เช่น อะดีนีน อินโนซีน ไทมีน ไทมิดิน ดีออกซียูริดีน นิวคลีโอไซด์เกี่ยวข้องกับกลไกและการทำงานของกลไกในกระบวนการสรีรศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทส่วนกลางและต้านการเกิดเนื้องอก (Wu et al., 2007) อย่างไรก็ตามถั่งเช่าสดในธรรมชาติมีปริมาณนิวคลีโอไซด์น้อยกว่าถั่งเช่าที่แห้งและแปรรูปแล้ว นอกจากนี้เส้นใยของถั่งเช่าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจะมีปริมาณนิวคลีโอไซด์สูง โดยปกติในการวัดคุณภาพของถั่งเช่าจะวัดจากคุณภาพของ

อะดีโนซีน (Pharmacopoeia of the People's Republic of China, 2005 อ้างโดย Li et al., 2006) และนิวคลีโอไซด์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง อะดีโนซีน อินโนซีน และคอร์ไดซิปิน ตามตาราง 1

ตาราง 1 ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อกรัม) ของสารประกอบในถั่งเช่าที่ได้จากวิธีการเพาะและแหล่งที่มาต่างกัน

Marker	ถั่งเช่าทิเบต (ธรรมชาติ)		ถั่งเช่าทิเบต (เพาะ)				ถั่งเช่าสีทอง (เพาะ)	
	Qinghai	Tibet	Jiangxi	Huadong	Wanfong	Boding	Jinan	Oli
Ergosterol	3.65	10.34	1.31	1.10	0.38	0.95	6.33	-
Adenosine	0.31	0.25	3.23	2.31	5.09	2.16	0.86	0.22
Cordycepin	0.04	0.06	ND	ND	ND	ND	9.22	5.71
Guanosine	0.20	0.18	2.80	1.82	4.45	2.55	0.69	0.17
Inosine	0.33	0.20	0.12	0.01	0.03	0.19	0.03	0.02
Uridine	0.66	0.83	3.11	1.54	8.14	1.93	1.96	0.51
Mannitol	38.64	35.42	10.24	12.83	13.41	11.21	ND	ND
Polysaccharides	4.75	8.22	5.83	7.51	5.96	3.84	ND	ND

ที่มา: Li et al., 2006

3. สรรพคุณของถั่งเช่า

ถั่งเช่าประกอบไปด้วยโพลีแซคาไรด์ร้อยละ 3 – 8 ของน้ำหนักแห้ง สารนี้ช่วยต้านอนุมูลอิสระ (Li et al., 2006) เพิ่มภูมิคุ้มกัน ต้านการเกิดเนื้องอกและเซลล์มะเร็ง (Wasser, 2002) มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ และส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันในหนูทดลอง (Wu et al., 2014)

สารคอร์ไดซิปินและกรดคอร์ไดซิปิกในถั่งเช่าช่วยเพิ่มพลังงานภายในร่างกาย ถูกใช้ในการเพิ่มความแข็งแกร่งของนักกีฬา ถั่งเช่าถูกใช้ในการป้องกันและรักษาสารพัดโรค เช่น โรคหอบหืด วัณโรค โรคหลอดลมอักเสบเรื้อรัง โรคไต โรคหัวใจ รวมถึงระบบไหลเวียนโลหิต ความดันโลหิตสูง ภาวะที่เม็ดเลือดขาวต่ำกว่าปกติ โรคนอนไม่หลับ อ่อนล้า ความเครียด ระบบประสาท โรคตับอักเสบเฉียบพลันและเรื้อรัง เพิ่มภูมิคุ้มกัน เพิ่มความแข็งแรงของร่างกายให้ต้านทานต่อแบคทีเรียและไวรัส (Ng and Wang, 2005) ต้านการเกิดเนื้องอก แก้ความผิดปกติทางเพศทั้งในผู้ชายและผู้หญิง (ตาราง 2) ถั่งเช่าถูกพิสูจน์แล้วว่าเป็นเชื้อราที่ไม่มีพิษ (nontoxic fungal substance) (Huang, 2010)

ปัจจุบันมีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงถั่งเช่าทางการค้ามากขึ้น มีการศึกษา รวบรวม จำแนก เพาะเลี้ยง ปรับปรุงสายพันธุ์ และพัฒนาการผลิตเป็นการค้าในจีน เกาหลี ญี่ปุ่น ไต้หวัน สหรัฐอเมริกา มาเลเซีย และสิงคโปร์ เนื่องจากความต้องการบริโภคมีมากขึ้นทั้งในรูปของการนำมาผลิตอาหารเสริมเป็นยา และใช้ประกอบอาหาร ถั่งเช่าที่ได้รับความสนใจและมีการนำไปใช้เป็นยามีอยู่หลายชนิด สรรพคุณทางยาก็มีมากน้อยแตกต่างกัน เห็ดถั่งเช่าชนิดต่างๆ ได้แก่ ถั่งเช่าทิเบตหรือถั่งเช่าแท้ ถั่งเช่าสีทอง ถั่งเช่าหิมะหรือถั่งเช่าเกาหลี และถั่งเช่าจักจั่นหรือว่านจักจั่น

ตาราง 2 สรรพคุณของถั่งเช่าสีทอง

	ฤทธิ์ทางชีวภาพ
Pro-sexual	เสริมสมรรถภาพทางเพศ
Anti-inflammatory	ต้านการอักเสบ
Anti-oxidant/anti-aging	ยับยั้งอนุมูลอิสระ/ชะลอความชรา
Anti-tumor/anti-cancer/	ต้านมะเร็งและเซลล์เนื้องอก
anti-leukemic	ต้านมะเร็งเม็ดเลือดขาว
Anti-proliferative	ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์
Anti-metastatic	ยับยั้งการแพร่กระจายของมะเร็ง
Immunomodulatory	ระบบภูมิคุ้มกัน
Anti-microbial	มีฤทธิ์ทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพ ได้แก่ ไวรัส แบคทีเรีย ริกเกตเซีย เชื้อรา ปรสิต และโปรโตซัว
Insecticidal	มีฤทธิ์ฆ่าแมลง
Larvicidal	มีฤทธิ์ฆ่าหนอน
Anti-fibrotic	ต้านการเกิดเส้นใยพังผืด
Steroidogenic	การสังเคราะห์ฮอร์โมนสเตียรอยด์
Hypoglycemic	น้ำตาลในเลือดสูง
Hypolipidemic	ลดไขมันในเส้นเลือด
Anti-angiogenic	ขัดขวางการสร้างหลอดเลือดฝอย
Anti-diabetic	ป้องกัน หรือบรรเทาอาการโรคเบาหวาน
Anti-HIV	ต้านเชื้อเอดส์
Anti-malarial	ต้านโรคมาลาเรีย หรือโรคไข้จับสั่น
Anti-fatigue	ลดอาการเหนื่อยล้า
Neuroprotective	ป้องกันเซลล์ประสาท
Liver-protective	ป้องกันการเสื่อมสภาพของตับ
Reno-protective	ป้องกันการเสื่อมสภาพของไต
Pneumo-protective	ป้องกันการเสื่อมสภาพของปอด

ที่มา : Das et al. (2010)

4. น้ำส้มสายชู (vinegar)

น้ำส้มสายชู เป็นผลิตภัณฑ์ที่มนุษย์ใช้บริโภคกันมาเป็นเวลานานแล้ว โดยใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหาร เป็นสารปรุงแต่งรส ช่วยในการถนอมอาหาร นอกจากนี้ยังมีการบริโภคในรูปแบบของเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ น้ำส้มสายชูมีคุณประโยชน์หลายด้าน เช่น การรับประทานน้ำส้มสายชูควบคู่ไปกับอาหารจะช่วยลดค่า

ดัชนีไกลซีมิก (Leeman et al., 2005) ช่วยลดระดับการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลกลูโคสและอินซูลินหลังการรับประทานอาหาร ทำให้ความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบาหวานลดลง (Johnston et al., 2004) ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของหนูทดลอง (Fushimi et al., 2006) มีผลต่อการลดน้ำหนักเนื่องจากช่วยลดความอยากอาหาร (Ostman et al., 2005) เป็นต้น

น้ำส้มสายชูหรือกรดอะซิติก (acetic acid) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากกระบวนการหมัก กลไกการผลิตน้ำส้มสายชูจากวัตถุดิบประเภทน้ำตาลมี 2 ขั้นตอน คือ การหมักน้ำตาลให้เป็นเอทานอล ซึ่งเป็นกระบวนการหมักแบบไม่ใช้อากาศ และอาศัยเชื้อยีสต์สกุล *S. cerevisiae* var. ellipsoideus และการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก โดยอาศัยเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม acetic acid bacteria ทำการหมักในสภาพมีอากาศ (วราวุฒิ และรุ่งนภา, 2532) ตัวอย่างวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู เช่น สับปะรด (สิริพร, 2527; นันทนิตย์, 2541) ตาลโตนด (นิตยา, 2544) เงาะ (วริศชนม์ และกุลพร, 2549) มะเกี๋ยง (สนธิสน และคณะ, 2550) ละมุด (สวรรยา และคณะ, 2551) มะพร้าว (มาลัย และคณะ, 2552) น้ำเวย์ (กุลวดี, 2552) หม่อน (เอื้องพลอย, 2552) กล้วย (จิราภรณ์ และกนกกานต์, 2554) ข้าวและข้าวเหนียว (นพกาญจน์, 2552; ประวีณา และคณะ, 2554; ธนภค, 2555) เป็นต้น

5. กลไกการผลิตน้ำส้มสายชู (mechanism in vinegar production)

กลไกการผลิตน้ำส้มสายชูจากวัตถุดิบประเภทน้ำตาล มี 2 ขั้นตอน คือ (มาลัย และคณะ, 2552)

1. การหมักน้ำตาลให้เป็นเอทานอล เป็นกระบวนการหมักแบบไม่ใช้อากาศ และอาศัยเชื้อยีสต์ในสกุล *S. cerevisiae* ดังสมการ

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\ CO_2 + 2\ C_2H_5OH$$

อย่างไรก็ตาม การหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์จากน้ำตาล ต้องอาศัยปฏิกิริยาหลายขั้นตอนประกอบกันอย่างต่อเนื่อง รวมทั้งจะเกิดผลพลอยได้หลายชนิด เช่น กลีเซอรอล รวมทั้งกรดอะซิติกอีกด้วย แต่มีในปริมาณน้อย และเมื่อการหมักขั้นแรกสิ้นสุดลง การหมักขั้นที่สองจะเริ่มขึ้น

2. การเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก โดยอาศัยเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม acetic acid bacteria เช่น *Acetobacter aceti, A. xylinum* ทำการหมักในสภาพมีอากาศ สำหรับปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

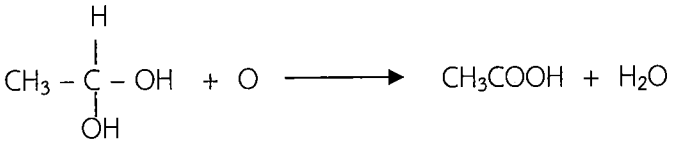
(1) ขั้นตอนแรก เป็นการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นอะเซทัลดีไฮด์ (acetaldehyde) โดยอาศัยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนี้

$$C_2H_5OH + O \longrightarrow CH_3CHO + H_2O$$

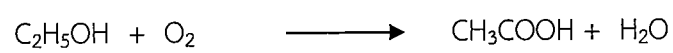
(2) ขั้นตอนที่สอง เป็นการเปลี่ยนอะเซทัลดีไฮด์ให้เป็นไฮเดรตอะเซทัลดีไฮด์ (hydrate acetaldehyde) โดยอาศัยเอนไซม์อะเซทัลดีไฮด์ดีไฮโดรเจนเนส (acetaldehyde dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนี้

$$CH_3CHO + H_2O \longrightarrow CH_3 - \underset{\displaystyle OH}{\overset{\displaystyle H}{\overset{|}{\underset{|}{C}}}} - OH$$

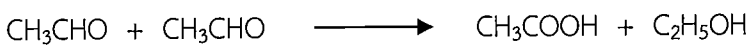
(3) ขั้นตอนที่สาม เป็นการสร้างกรดอะซิติก โดยเกิดปฏิกิริยาการส่งโปรตอน 2 ตัว ของไฮเดรตอะเซทัลดีไฮด์ไปยังอะตอมของออกซิเจน เกิดกรดอะซิติกออกมา โดยอาศัยเอนไซม์อัลดีไฮด์ดีไฮโดรเจนเนส (aldehyde dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนี้



อย่างไรก็ตาม สามารถสรุปปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติกได้ ดังนี้



นอกจากนี้ การสังเคราะห์กรดอะซิติก อาจเกิดขึ้นได้จากปฏิกิริยาการรวมตัวของอะเซทัลดีไฮด์ 2 โมเลกุล เรียกปฏิกิริยานี้ว่า Cannizzaro reaction ดังแสดงในสมการ



6. ปัจจัยสำคัญที่มีผลในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู

ในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู มีสิ่งที่ควรคำนึงถึง ดังนี้

1. สารอาหารที่จำเป็น (required nutrients)

ในการหมักเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์จำเป็นต้องมีการเติมสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ แต่ทั้งนี้ขึ้นกับส่วนประกอบที่มีอยู่ในวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักเป็นสำคัญ ถ้าเป็นวัตถุดิบที่ได้จากธรรมชาติอาจไม่จำเป็นต้องเติมสารอาหารเพิ่มเติม ในกรณีการหมักเพื่อผลิตน้ำส้มสายชู สารอาหารที่จำเป็นต้องเติมขึ้นกับวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก เช่น การหมักน้ำส้มสายชูจากแอปเปิล (cider vinegar) จำเป็นจะต้องเติมแหล่งไนโตรเจนเพิ่ม โดยอาจเติมในรูปเกลือแอมโมเนียมฟอสเฟตในระดับความเข้มข้น 0.4 กรัมต่อน้ำหมัก 1 ลิตร ทั้งนี้เพื่อให้การหมักเกิดขึ้นในระดับที่น่าพอใจ

ในการเติมสารอาหารต่างๆ อย่างเพียงพอ จะทำให้การหมักเพื่อผลิตกรดอะซิติกเกิดขึ้นอย่างน่าพอใจ ในการผลิตระดับอุตสาหกรรมมักต้องเติมอาหารเสริม เช่น มอลท์สกัด (malt extract) หรือยีสต์แห้ง (dried yeast) ความเข้มข้นไม่เกิน 0.2 กรัมต่อน้ำหมัก 1 ลิตร เพื่อให้เกิดการหมักอย่างรวดเร็ว ในกรณีที่การหมักถูกทำให้หยุดหรือชะงัก เนื่องจากความขัดข้องของแหล่งพลังงาน (power supply) ที่ใช้ในการทำงานของถังหมัก

น้ำที่ใช้ในการเตรียมน้ำหมัก (mashes) จะต้องเป็นน้ำที่สะอาดปราศจากสิ่งปนเปื้อน ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และไม่มีอนุภาคของสารที่กระจายอยู่หรืออาจตกลงมาในน้ำหมักได้ น้ำที่ใช้นี้จำเป็นต้องแยกเอาเกลือแร่ต่างๆ ออกมาก่อน (demineralized) แล้วจึงเติมเกลือแร่ที่ต้องการลงไปภายหลัง อย่างไรก็ตาม ในบางครั้งน้ำที่ใช้อาจเป็นน้ำประปาที่ใช้ตามบ้านเรือน จำเป็นจะต้องนำไปผ่านการกำจัดคลอรีนออกก่อน มิฉะนั้นอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตกรดอะซิติกได้

2. เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง (acetic acid-producing microorganism)

การผลิตน้ำส้มสายชู ถ้าใช้วัตถุดิบประเภทต่างๆ ที่ไม่ใช่แอลกอฮอล์ จะต้องนำวัตถุดิบนั้นมาหมักให้ได้แอลกอฮอล์ก่อนด้วยเชื้อยีสต์ จากนั้นจึงนำเอาแอลกอฮอล์ที่ได้มาใช้หมักเพื่อผลิตกรดอะซิติกอีกต่อหนึ่ง โดยอาศัยเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติกได้ ดังนั้น เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการผลิตกรดอะซิติก แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

(1) ยีสต์ ยีสต์ที่ใช้ในการหมักเพื่อผลิตกรดอะซิติก หรือน้ำส้มสายชูเป็นชนิดเดียวกับที่ใช้ในการหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ ทั้งนี้เพราะต้องการให้ได้แอลกอฮอล์เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักด้วยแบคทีเรียต่อ ในปัจจุบันได้มีการคัดเลือกยีสต์สำหรับผลิตแอลกอฮอล์เพื่อนำไปผลิตกรดอะซิติกโดยตรง เช่น การผลิต

น้ำส้มสายชูจากไวน์ (wine vinegar) ยีสต์ที่ใช้ คือ *S. ellipsoideus* ซึ่งเป็นเชื้อที่คัดเลือกได้ในการหมักไวน์และได้น้ำส้มสายชูที่มีกลิ่นและรสดี เมื่อนำไวน์นั้นมาหมักที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้ยังมียีสต์ที่สามารถใช้หมักแอลกอฮอล์เพื่อเป็นวัตถุดิบในการหมักน้ำส้มสายชูอีกหลายสายพันธุ์ โดยอยู่ในสกุล *Saccharomyces* เช่นเดียวกัน ได้แก่ *S. cerevisiae, S. diastaticus* และ *S. carlsbergensis* เป็นต้น

(2) แบคทีเรียในกลุ่มที่ผลิตกรดอะซิติก

แบคทีเรียที่มีบทบาทในการผลิตกรดอะซิติกหรือน้ำส้มสายชู อยู่ในสกุล *Acetobacter* โดยพบเชื้อชนิดนี้จากไวน์ที่เกิดรสเปรี้ยว *Acetobacter* มีลักษณะเซลล์ รูปไข่ (ellipsoidal-shaped) หรือรูปแท่ง (rod-shaped) มีขนาด 0.6 – 0.8 x 1.0 – 3.0 ไมโครเมตร เซลล์อาจจะอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว หรืออยู่เป็นคู่ หรืออยู่เป็นเส้นสาย

สำหรับคุณสมบัติของเชื้อในสกุล *Acetobacter* พบว่า แบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดอะซิติกได้ คือ *Acetobacter* และ *Gluconobacter* แต่ต่างกันตรงที่ *Acetobacter* ผลิตกรดอะซิติกได้มากกว่า *Gluconobacter* เชื้อ *Acetobacter* ที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำส้มสายชูจำเป็นจะต้องได้รับการคัดเลือกมาเพื่อให้ได้คุณสมบัติที่ดี ดังนี้

- สามารถทนต่อความเข้มข้นของกรดอะซิติกในระดับสูง
- สามารถทนต่อความเข้มข้นทั้งหมดของกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในน้ำหมัก (total concentration) ได้สูง
- ต้องการสารอาหารเพิ่มเติมเพียงเล็กน้อย
- ไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยา overoxidation ซึ่งจะเปลี่ยนกรดอะซิติกให้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ในช่วงการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก (ปฏิกิริยาออกซิเดชัน) นี้ ไม่ขึ้นกับการเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell multiplication) ของเชื้อ *Acetobacter* คือ หลังจากเซลล์หยุดการเจริญเติบโตแล้ว เซลล์จะเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติกในช่วงระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น จนกระทั่งความเข้มข้นของกรดอะซิติกสูงสุดแล้ว เซลล์จะตายอย่างรวดเร็ว และทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันหยุดลงทันทีเช่นกัน

7. มาตรฐานของน้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น ต้องมีคุณภาพและมาตรฐาน (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน น้ำส้มสายชูหมัก มผช.326/2557) ดังต่อไปนี้

1. มีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 27 องศาเซลเซียส
2. ตรวจพบสารปนเปื้อนได้ไม่เกินปริมาณกำหนด ดังต่อไปนี้
   - สารหนู ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
   - ทองแดงและสังกะสี ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
   - เหล็ก ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
3. ไม่มีกรดน้ำส้มที่มิได้มาจากการผลิตน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น
4. ไม่มีกรดกำมะถัน (sulfuric acid) หรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น
5. ใส ไม่มีตะกอน เว้นแต่น้ำส้มสายชูหมักตามธรรมชาติ
6. ไม่มีหนอนน้ำส้ม (vinegar eel)
7. ใช้น้ำสะอาดเป็นส่วนผสม
8. ให้ใช้วัตถุเจือปนอาหาร (food additive) ได้ ดังต่อไปนี้
   - ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (sulfur dioxide) ไม่เกิน 70 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

- กรดแอล-แอสคอร์บิก (L-ascorbic acid) ไม่เกิน 400 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

9. มีแอลกอฮอล์ตกค้าง (residual alcohol) ไม่เกินร้อยละ 0.5

10. การแต่งสี ให้ใช้น้ำตาลเคี่ยวไหม้หรือสีคาราเมล (caramel)

8. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Solomon (2003) ศึกษาสมบัติทางยาของเห็ดหลายชนิด โดยทำการเลี้ยงให้ได้เส้นใย (mycelium) และเลี้ยงในอาหารเหลว พบว่า ส่วนของดอกเห็ดมีสารพอลิแซคคาไรด์เป็นองค์ประกอบ ส่วนประกอบหลักของพอลิแซคคาไรด์คือเบต้ากลูแคน สามารถต่อต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ สารพอลิแซคคาไรด์ที่ใช้เป็นยาที่พบในเห็ดหลายชนิด เช่น *Agaricus brasiliensis, Phellinus lentinus, Grifora frondosa, Tremella mesenterrica, Hypsizigus marmoreus, Flammulina velutipes* ซึ่งให้ผลที่ดีทั้งสิ้น สารพอลิแซคคาไรด์ที่ได้จากเห็ดไม่ได้เข้าทำลายเซลล์มะเร็งโดยตรง แต่ทำให้เกิดผลกระทบต่อการเจริญของเซลล์มะเร็ง และช่วยให้ผู้ป่วยสามารถสร้างภูมิคุ้มกันขึ้นได้

ประวีณา และคณะ (2557) ศึกษาการผลิตเส้นใยเห็ดแครงและพอลิแซกคาไรด์ ด้วยการเพาะเลี้ยงแบบกะในอาหารเหลว potato dextrose broth (PDB) ที่มีการเติม 2% malt extract พบว่าที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 6 วัน ได้ผลผลิตของเส้นใยเห็ดเท่ากับ 8.65 กรัมต่อลิตร และที่ระยะการเวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน ได้ผลผลิตของพอลิแซกคาไรด์รวมเท่ากับ 1.98 กรัมต่อลิตร ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยวิธี Folin-Ciocalteu reagent ได้ค่า total phenolic compound เท่ากับ 8.54 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลิคต่อกรัมของสารสกัด การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระพบว่า สารสกัดจากเส้นใยที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า reducing power เท่ากับ 0.684 และมีกิจกรรมในการจับอนุมูลอิสระ 0.2 mM DPPH มีค่าเท่ากับ 70.89 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเส้นใยที่ได้จากการเพาะเลี้ยง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cerues* และ *Staphylococcus aureus* นอกจากนี้การหมักน้ำองุ่นด้วยเส้นใยเห็ดแครง สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ความเข้มข้นถึง 6.09 เปอร์เซนต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 24 วัน จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าเส้นใยเห็ดแครงมีศักยภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และสามารถใช้ในการหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์แทนยีสต์ได้

Lia et al. (2015) ศึกษาผลของการให้ความร้อนด้วยการนึ่งด้วยไอน้ำเดือดต่อสารออกฤทธิ์ของถั่งเช่าสีทอง พบว่า ปริมาณอะดีโนซีนลดลงอย่างรวดเร็วถึง 70 – 75 เปอร์เซนต์ หลังการนึ่ง 15 นาที ในขณะที่ปริมาณคอร์ไดซิปินลดลงเล็กน้อยเพียง 3.1 เปอร์เซนต์ ตลอดระยะเวลาการนึ่ง 120 นาที

ปวีนา และคณะ (2560) ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเพาะเลี้ยงจากเมล็ดธัญพืช 8 ชนิด พบว่า อาหารชนิดแข็งที่มีส่วนผสมของน้ำสกัดจากข้าวไรซ์เบอรี่ ให้การเจริญของเส้นใยถั่งเช่าสีทองได้ดีสุด ที่ระยะเวลา 18 วัน ปริมาตรของอาหารเหลวที่น้อยที่สุดที่สามารถใช้เพาะเลี้ยงเส้นใยถั่งเช่าสีทอง คือ 100 มิลลิลิตรต่อภาชนะบรรจุ โดยให้อัตราส่วนน้ำหนักแห้งของเส้นใยต่อปริมาตรอาหารเพาะเลี้ยงสูงสุด ในขณะที่ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ให้ปริมาณผลผลิตคิดเป็นน้ำหนักแห้งของเส้นใยสูงสุด การเพาะเลี้ยงเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลวเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งตามปกติทางการค้า พบว่าการเลี้ยงในอาหารเหลวสภาวะนิ่งสามารถลดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงลงได้ 1 เท่าตัว ส่วนสภาวะมีการเขย่าสามารถลดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงลงได้ 2 เท่าตัว โดยเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งจากงานวิจัยนี้ มีปริมาณคอร์ไดเซปินสูงกว่าผลิตภัณฑ์ถั่งเช่าสีทองทางการค้า แต่มีปริมาณอะดิโนซีนต่ำกว่าทางการค้า

มาลัย และคณะ (2548) ได้ศึกษาการแปรรูปน้ำมะพร้าวน้ำหอมเป็นน้ำส้มสายชูหมัก ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าและอายุการเก็บนานกว่ามะพร้าวผลสด โดยศึกษากรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำมะพร้าวน้ำหอมแบบครบวงจร คือ ศึกษาการผลิตและการเก็บรักษาหัวเชื้อน้ำส้มสายชูด้วยน้ำ

มะพร้าวน้ำหอม การผลิตไวน์จากน้ำมะพร้าวน้ำหอม การผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำมะพร้าวน้ำหอม ได้ศึกษาองค์ประกอบของสูตรอาหารและกรรมวิธีการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำส้มสายชู ผลการศึกษาพบว่า สามารถเพาะเลี้ยงและเก็บรักษาหัวเชื้อน้ำส้มสายชูหมักในอาหารน้ำมะพร้าวน้ำหอมที่เติม yeast extract ได้นานกว่า 3 เดือน โดยมีเซลล์มีชีวิตที่ 10^4 CFU/ml และใช้ในการหมักได้ดี ส่วนการผลิตน้ำส้มสายชูโดยเชื้อ *A. aceti* พบว่าสามารถผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำมะพร้าวน้ำหอมได้กรดน้ำส้มร้อยละ 6.5 – 7.0 ภายในเวลา 5 วัน และมีอัตราการเปลี่ยนไวน์เป็นน้ำส้มสายชูได้ที่ระดับใกล้เคียง 1 : 1

สิทธิสน และคณะ (2550) พบว่ากระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูจากมะเกี๋ยง เมื่อใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อที่ความเข้มข้น 10 13 และ 16 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ภายในเวลา 5 วัน เมื่อนำไวน์ที่ได้มาหมักต่อด้วยแบคทีเรีย *A. aceti* โดยใช้ปริมาณกล้าเชื้อ 3 ระดับ คือ 5 10 และ 15 เปอร์เซนต์ พบว่าปริมาณกรดอะซิติกที่ได้มีค่า 0.42 3.21 และ 3.29 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ภายในระยะเวลา 10 วัน การผลิตกรดอะซิติกจากไวน์มะเกี๋ยงโดยใช้เครื่องกวนที่ความเร็วรอบ 200 400 และ 600 rpm จะได้ปริมาณของกรดอะซิติก 2.38 2.37 และ 1.72 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะถูกทำให้ใสขึ้นโดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิต่ำ และกรองด้วยกระดาษกรอง สำหรับการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคเมื่อปรุงแต่งด้วยสารให้ความหวาน 5 ชนิด น้ำเชื่อมข้าวโพด น้ำผึ้ง น้ำตาลกรวด และน้ำตาลทรายขาว ได้รับคะแนนการยอมรับด้านสีในระดับ 5.96 – 6.24 น้ำผึ้งได้รับคะแนนการยอมรับด้านกลิ่น 6.24 น้ำตาลกรวดได้รับคะแนนการยอมรับด้านรสชาติ 5.28 และน้ำผึ้งและน้ำตาลกรวดได้รับคะแนนการยอมรับด้านความชอบโดยรวมอยู่ในช่วง 5.60 และ 5.16 ตามลำดับ

สวรรยา และคณะ (2551) ศึกษาการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากละมุด โดยศึกษาอัตราส่วนระหว่างเนื้อละมุดต่อน้ำที่ 1 : 2 1 : 3 และ 1 : 4 พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมในการทำไวน์ละมุด คือ 1 : 4 มีเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์เท่ากับ 10.4% เมื่อนำมาผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากละมุดด้วยการหมักในถาดสแตนเลส (rapid tray method) จาก *A. aceti* สายพันธุ์ 102 ในเวลาหมัก 3 วัน น้ำส้มสายชูที่ได้มีเปอร์เซ็นต์กรดอะซิติกเท่ากับ 5.76% จากนั้นนำมาผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากละมุดผสมน้ำลูกหม่อนและทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส พบว่าน้ำส้มสายชูหมักจากละมุด 5% ผสมน้ำส้มสายชูหมัก 3% และฟรุกโตสไซรัป 8% ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบทางด้านสี รสชาติ กลิ่น ความเปรี้ยวของน้ำส้มสายชูและความชอบโดยรวมมากที่สุด

กุลวดี (2552) ผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเวย์เต้าหู้และน้ำเวย์เนยแข็ง โดยใช้ยีสต์หมักน้ำตาลในน้ำเวย์ให้เป็นเอทานอล จากนั้นใช้ acetic acid bacteria ออกซิไดซ์เอทานอลเป็นกรดอะซิติก โดยคัดเลือก acetic acid bacteria จากตัวอย่างผลไม้ 7 ชนิด ได้แก่ สับปะรด เงาะ องุ่น ลำไย เสาวรส มะละกอ และมังคุด พบว่าไอโซเลท K10 ที่แยกได้จากสับปะรดผลิตกรดได้สูงสุดในวันที่ 7 เท่ากับ 13.37 g/l และเมื่อนำ K10 มาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการ พบว่าเป็น *A. aceti* K10 เมื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเวย์เต้าหู้และน้ำเวย์เนยแข็ง พบว่า *S. cerevisiae* V1116 และ *Kluyveromyces marxianus* TISTR 5116 ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ใกล้เคียงกันประมาณ 8.5% ในวันที่ 15 ของการหมัก จึงเลือก *S. cerevisiae* TISTR V1116 หมักแอลกอฮอล์จากน้ำเวย์เต้าหู้และน้ำเวย์เนยแข็งปริมาตร 30 ลิตร บ่มตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน จากนั้นเติมเชื้อตั้งต้น *A. aceti* K10 ลงไปในน้ำหมัก 1.5 ลิตร ปริมาณ 3 6 และ 9% ของน้ำหมักเพื่อหมักกรดอะซิติก ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับ *A. aceti* TISTR 103 ซึ่งเป็นสายพันธุ์อ้างอิง พบว่าปริมาณเชื้อตั้งต้น *A. aceti* K10 ที่ 6 และ 9% สามารถผลิตน้ำส้มสายชูหมักที่มีกรดอะซิติกไม่น้อยกว่า 4% (w/v) และปริมาณกรดสูงสุดในน้ำเวย์เต้าหู้และน้ำเวย์เนยแข็งเท่ากับ 4.44% และ 4.56% (w/v) ตามลำดับ นอกจากนี้น้ำส้มสายชูหมักที่ได้จะมี สี กลิ่น และรสชาติเฉพาะตัวของน้ำเวย์ที่เป็นสารตั้งต้น

นพกาญจน์ (2552) ศึกษาการหมักน้ำส้มสายชูจากข้าว 5 ชนิด ได้แก่ ข้าวหอมมะลิขัดขาว (KDML 105) ข้าวกล้องหอมมะลิ ข้าวกล้องหอมนิล ข้าวแดงมันปู และข้าวท่อน โดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้แก่ *Aspergillus oryzae* TISTR 3018, *S. cerevisiae* TISTR 5049 และ *A. aceti* TISTR 102 เมื่อนำข้าวทั้ง 5 ชนิด ชนิดละ 50 กรัม ไปผ่านการหุงสุกแล้วนำมาหมักด้วยกล้าเชื้อผงสปอร์ (Tanekoji) ปริมาณ 1.0 กรัม เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (28 ±1°C) เป็นเวลา 7 วัน พบว่าข้าวหอมมะลิให้ปริมาณน้ำตาลสูงสุดที่ 252 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักข้าว 100 กรัม เมื่อเติม *S. cerevisiae* TISTR 5049 5% (v/v) ลงไปในอาหารหมักและเพาะเลี้ยงต่อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 วัน พบว่า ข้าวกล้องหอมมะลิมีความเข้มข้นของเอทานอลมากที่สุดเท่ากับ 40.24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอื้องพลอย (2552) พัฒนาเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำผลหม่อน ศึกษาระยะการสุกของผลหม่อนที่เหมาะสมในการแปรรูป พบว่า ผลหม่อนที่ระยะสุกจัด (ผลสีม่วงดำ) มีความเหมาะสมในการแปรรูปมากกว่าผลหม่อนที่ระยะสุกปานกลาง (ผลสีม่วงแดง) เนื่องจากมีปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์ และความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่า จากนั้นนำน้ำคั้นของผลหม่อนที่มีระยะสุกจัดมาผ่านกระบวนการหมักสองขั้นตอน คือ การหมักแอลกอฮอล์และการหมักกรดอะซิติก โดยศึกษาผลของความเข้มข้นของแอลกอฮอล์เริ่มต้น 3 ระดับ (ร้อยละ 6, 9 และ 12) ที่มีต่อปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์และความสามารถในการต้านออกซิเดชัน พบว่า ในขั้นการหมักกรดอะซิติก ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์มีผลต่อปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์และความสามารถในการต้านออกซิเดชันอย่างมีนัยสำคัญ โดยการหมักที่ความเข้มข้นแอลกอฮอล์เริ่มต้นร้อยละ 9 ได้ปริมาณกรดอะซิติก สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (EC50) มากที่สุด คือ ร้อยละ 1.07±0.01, 285.20±6.10 mg GAE/100ml และ 8.92±0.85 ml/100ml ตามลำดับ ซึ่งมีความเหมาะสมในการนำไปผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำผลหม่อน ในกระบวนการพัฒนาผลิตภัณฑ์ ขั้นแรกทำการสำรวจผู้บริโภค 400 คน พบว่าต้องการให้เพิ่มน้ำผลหม่อนลงในเครื่องดื่ม ขั้นที่สองทำการหาสูตรเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักที่เหมาะสม พบว่าประกอบด้วยร้อยละของน้ำส้มสายชูหมักจากผลหม่อน 50 น้ำผึ้ง 15 และน้ำผลหม่อน 35 การศึกษาผลของกระบวนการฆ่าเชื้อที่มีต่อปริมาณและความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยเปรียบเทียบกระบวนการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 80, 85 และ 90 องศาเซลเซียส (D75 °C = 1.5 min) และการบรรจุขณะร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส พบว่าการฆ่าเชื้อทุกกระบวนการส่งผลต่อปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์และความสามารถในการต้านออกซิเดชันอย่างมีนัยสำคัญ การเก็บรักษาเครื่องดื่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน มีผลต่อปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์เพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยกระบวนการพาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส สามารถรักษาปริมาณฟลาโวนอยด์ในรูปควอเซอทิน ปริมาณแอนโทไซยานิน และความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าวิธีอื่น ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการพัฒนาแล้วมีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3.92±0.02 ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ทั้งหมดในรูปกรดอะซิติกร้อยละ 0.73±0.01 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 15.73±0.11 °Brix ปริมาณแอลกอฮอล์ที่หลงเหลือร้อยละ 0.35±0.04 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 16.57±0.94 g/100ml มีค่าสี L*, a* และ b* 18.90±0.75, 1.67±0.17 และ 0.51±0.11 ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเป็นพิษและก่อให้เกิดโรค และได้คะแนนการยอมรับอยู่ในระดับความชอบเล็กน้อยจากการทดสอบผู้บริโภค (n=200) ในด้านความชอบโดยรวม กลิ่นน้ำส้มสายชู ความเปรี้ยว ความหวาน และความรู้สึกหลังชิม นอกจากนี้ เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำผลหม่อนยังมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 11.27±0.44 mg QE/100ml และความสามารถในการต้านออกซิเดชันเท่ากับ 14.18±0.41 ml/100ml ซึ่งมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะใกล้เคียงกันในท้องตลาด

จิราภรณ์ และกนกกานต์ (2554) ทำการผลิตน้ำส้มสายชูหมักแบบธรรมชาติจากเศษกล้วยน้ำว้า โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมัก พบว่าอัตราส่วนเนื้อกล้วยต่อน้ำ 1 : 2 และกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR

5049 ปริมาณ 15% ระยะเวลาในการหมัก 15 วัน มีปริมาณแอลกอฮอล์ 10.45% และกล้าเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* TISTR 103 ปริมาณ 15% ระยะเวลาในการหมัก 15 วัน มีปริมาณกรดอะซิติก 3.65% เมื่อทำการหมักไวน์โดยใช้ลูกแป้งยีสต์ พบว่าการเติมลูกแป้งยีสต์ 0.5% ระยะเวลาในการหมัก 15 วัน มีปริมาณแอลกอฮอล์ 13.30% หลังจากนั้นทำการหมักน้ำส้มสายชูโดยใช้ลูกแป้งแบคทีเรีย พบว่าการเติมลูกแป้ง 0.5% ระยะเวลาในการหมัก 18 วัน มีปริมาณกรดอะซิติก 6.34% การศึกษาอายุการเก็บรักษาของลูกแป้งที่ยังให้กิจกรรมการหมักสูง พบว่าลูกแป้งยีสต์และลูกแป้งแบคทีเรียมีอายุการเก็บรักษา 8 สัปดาห์ และ 2 สัปดาห์ ตามลำดับ

ประวีณา และคณะ (2554) พัฒนาน้ำส้มสายชูหมักโดยใช้ข้าวเหนียวดำกล้อง ใช้โคจิของเชื้อรา *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 ปริมาณ 0.4% ของน้ำหนักข้าวเหนียวดำ ในการย่อยข้าวเหนียวดำ จะได้น้ำตาลกลูโคส 39.6% เมื่อนำสารละลายที่ได้มาผสมกับน้ำมะพร้าวหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5049 เป็นเวลา 8 วัน จะได้ไวน์ข้าวเหนียวดำที่มีปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับ 11.5% ทำการปรับไวน์ข้าวเหนียวดำให้มีปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้น 5% ค่า pH 5.5 หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* TISTR 354 ด้วยวิธีการเขย่าให้อากาศเป็นเวลา 3 วัน จะได้น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียวดำที่มีปริมาณกรดอะซิติก 5.48% ค่า pH 3.38 และมีปริมาณไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ เท่ากับ 5.01 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

ธนภค (2555) ผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวไทย 4 ชนิดดังนี้ ข้าวหอมมะลิ (KDML105) ข้าวกล้องหอมมะลิ (KDML105) ข้าวกล้องหอมนิล และข้าวแดงมันปู โดยในขั้นตอนแซคคาริฟิเคชันจะใช้ผงสปอร์เชื้อ *As. oryzae* TISTR 3018 (1% โดยน้ำหนัก) ทำการหมักเป็นเวลา 3 วัน แล้วทำการเติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 1.5 ลิตร ลงในอาหารหมัก จากนั้นเติมเชื้อตั้งต้น (suspension) *S. cerevisiae* TISTR 5049 (3×10^6 เซลล์/มล.) ปริมาตร 14 มล. ลงในถังหมักเพื่อให้เกิดกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์จากน้ำตาล ทำการหมักต่อเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้องแล้วเติมเชื้อตั้งต้น *A. aceti* TISTR 102 (9×10^6 เซลล์/มล.) ปริมาตร 21 มิลลิลิตร ลงในถังหมักปริมาตร 6 ลิตร พบว่า น้ำหมักจากข้าวกล้องหอมมะลิให้ปริมาณกรดสูงสุดคือ 3.33% (w/v) ส่วนข้าวหอมมะลิ ข้าวกล้องหอมนิลและข้าวแดงมันปู มีปริมาณกรดเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก 2.74, 0.92 และ 2.01% (w/v) ตามลำดับ และมีปริมาณกรดอะซิติกโดยวิธี HPLC ในน้ำส้มสายชูจากข้าวกล้องหอมมะลิ (KDML105) ข้าวกล้องหอมนิลและข้าวแดงมันปู เท่ากับ 2.77, 0.82 และ 1.94 % (w/v) ตามลำดับ ส่วนน้ำส้มสายชูจากข้าวหอมมะลิมีปริมาณกรดอะซิติกสูงสุดเท่ากับ 3.92% (w/v) แต่ในทางกลับกันน้ำส้มสายชูจากข้าวหอมมะลิมีปริมาณกรดฟีนอลิกและสารอาหารต่ำสุด จากการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มสายชูจากข้าวทั้ง 4 ชนิด เทียบกับกรดแอสคอร์บิกพบว่า น้ำส้มสายชูจากข้าวกล้องหอมมะลิและข้าวหอมนิลมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณกรดฟีนอลิกในน้ำส้มสายชูตัวอย่างดังกล่าวด้วย

สุภกาญจน์ และคณะ (2553) ผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเม่าแดงที่เหลือจากการคัดในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* และสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติกของเชื้อ *A. aceti* (TISTR 102) พบว่า อัตราส่วนเหมาะสมระหว่างเม่าแดงต่อน้ำ คือ 1 : 4 ซึ่งให้ค่าใกล้เคียงกัน ปริมาณกรดที่เหมาะสมในการหมักไวน์คือ ร้อยละ 0.4 ส่วนสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติก คือ ใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำหมักและน้ำเม่าแดงที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ร้อยละ 30 และ 70 ตามลำดับ โดยมีร้อยละของแอลกอฮอล์เริ่มต้นการหมัก ร้อยละ 5, 6 และ 7 ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าแอลกอฮอล์เริ่มต้นร้อยละ 5 มีการผลิตกรดอะซิติกได้ร้อยละ 4.14 ในขณะที่แอลกอฮอล์เริ่มต้นร้อยละ 6 และ 7 มีการเพิ่มขึ้นของกรดอะซิติกได้ต่ำกว่าและช้ากว่า

Su and Chien (2007) ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน สารแอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิก ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มจาก rabbit eye blueberry พบว่าในผลิตภัณฑ์ที่เป็นน้ำส้มสายชู

หมัก จะมีปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และความสามารถในการต้านออกซิเดชันลดลงเมื่อผ่านการหมัก

Velicanski et al. (2007) ศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของ lemon balm kombucha ซึ่งเป็นเครื่องดื่มชนิดหนึ่งที่มีการหมักเพื่อให้ได้กรดอะซิติก พบว่าเครื่องดื่มที่ผ่านการหมักแล้วมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่สูงกว่าเครื่องดื่มที่ยังไม่ได้ผ่านการหมัก

พรชัย (2552) จดอนุสิทธิบัตรน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโพด และกรรมวิธีการผลิตที่ประกอบด้วย ข้าวโพด น้ำลวกข้าวโพด น้ำเชื่อม ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต แมกนีเซียมซัลเฟต โมโนโซเดียมฟอสเฟต และเชื้อยีสต์ตกตะกอน (flocculate yeast) ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่พร้อมสำหรับการบริโภค และสามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน โดยผ่านกระบวนการหมักให้เกิดกรดน้ำส้มสายชูหรือกรดอะซิติก ด้วย *A. aceti* จนได้น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโพดที่มีสีและกลิ่นหอม ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของข้าวโพดตามธรรมชาติ แล้วจึงนำมาปรับความเข้มข้นของกรดให้เหมาะสมตามต้องการก่อนบรรจุลงภาชนะ

จงรัก (2556) จดอนุสิทธิบัตรกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก ซึ่งประกอบด้วยการนำข้าวกล้องเหนียวดำพันธุ์ลืมผัวมาผ่านกระบวนการนึ่งให้สุก เสร็จแล้วปล่อยให้เย็น จากนั้นนำไปล้างเมือกออก ทำการสลัดน้ำให้แห้งหมาดๆ โดยใช้เครื่องเหวี่ยงสลัดน้ำหรือปล่อยให้แห้งโดยธรรมชาติ เมื่อได้แล้วนำไปหมักในภาชนะปิดโดยการคลุกกับลูกแป้งข้าวหมากให้ทั่ว ในอัตรา 1 : 1 ทิ้งไว้ประมาณ 3 – 4 วัน จึงเติมน้ำสะอาดลงไปในภาชนะหมักในอัตรา 2 : 1 หมักไว้อีกประมาณ 7 – 10 วัน ทำการถ่ายน้ำ และกรองเอาข้าวออกโดยวิธีไซฟ่อน เพื่อให้ตะกอนที่แขวนลอยอยู่ในน้ำตกตะกอน แล้วจึงถ่ายน้ำออกอีกครั้ง แล้วหมักทิ้งไว้ให้สัมผัสกับอากาศอีกประมาณ 10 – 15 วัน ก็จะได้น้ำส้มสายชูหมักที่มีความเปรี้ยวที่มีค่าความเป็นกรดอะซิติกประมาณ 4%

ประมวล และคณะ (2556) จดอนุสิทธิบัตรกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์ผลไม้ โดยการผสมน้ำผลไม้ที่มีความหวาน 3 – 5 องศาบริกซ์ ไวน์ผลไม้ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ ร้อยละ 3 – 5 โดยปริมาตร และหัวเชื้อน้ำส้มสายชูที่เตรียมขึ้นจากเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* TISTR 354 ที่มีปริมาณกรดน้ำส้มร้อยละ 2.5 – 3.0 โดยปริมาตร ลงในภาชนะสำหรับการหมักที่มีลักษณะเป็นภาชนะรูปทรงกระบอกที่มีฐานกว้าง เพื่อทำการหมักด้วยเทคนิคการหมักบนผิวหน้าภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 25 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 – 72 ชั่วโมง จากนั้นเติมไวน์ผลไม้ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ ร้อยละ 3 – 5 โดยปริมาตรลงไป และถ่ายสารละลายทั้งหมดลงในภาชนะสำหรับการหมักอีกครั้ง หมักที่อุณหภูมิ 25 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 – 5 วัน กรองสารละลายที่ได้จากการหมักและต้มฆ่าเชื้อ จะได้ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากไวน์ผลไม้ที่มีปริมาณกรดน้ำส้มอยู่ร้อยละ 6 – 7 โดยปริมาตร ในระยะเวลาเพียง 6 – 8 วัน ซึ่งสามารถใช้เป็นกรรมวิธีการผลิตเพื่อการพาณิชย์ทดแทนกรรมวิธีการหมักแบบธรรมชาติได้ โดยไม่จำเป็นต้องใช้เทคโนโลยี เครื่องมือ และอุปกรณ์ ที่มีความซับซ้อน

เขมพัษ และคณะ (2559) จดอนุสิทธิบัตรกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์ข้าวมีสี และสูตรน้ำส้มสายชูเสริมสุขภาพพร้อมดื่ม วัตถุดิบเป็นข้าวชนิดขัดสีแล้ว และ/หรือ ข้าวกล้องของข้าวมีสี และ/หรืออย่างใดอย่างหนึ่ง เช่น ข้าวกล้องของข้าวมีสีพันธุ์พื้นเมือง หรือพันธุ์ข้าวท้องถิ่น และพันธุ์ข้าวใหม่ๆ ที่ได้พัฒนาขึ้นในประเทศไทย จำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวกล้องพันธุ์ไรซ์เบอรี่ สินเหล็ก หอมมะลิแดง และหอมนิล โดยกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์ข้าวมีสีประกอบด้วย การย่อยข้าวกล้องของข้าวมีสีด้วยเอนไซม์ให้ได้เป็นน้ำตาลจากข้าว เพื่อให้ได้วัตถุดิบในการหมักไวน์จากข้าวมีสี จากนั้นจึงนำน้ำตาลจากข้าวมาใช้ในขั้นตอนการหมักไวน์ข้าวมีสี ด้วยการปรับความหวานให้ได้ 20 – 22 องศาบริกซ์ และหมักด้วยเชื้อยีสต์ในกลุ่มที่สามารถเปลี่ยนแป้งเป็นแอลกอฮอล์เป็นเวลา 15 – 20 วัน แล้วจึงนำไวน์ข้าวและกากข้าวจากการหมักไวน์มาใช้ในขั้นตอนการหมักน้ำส้มสายชูไวน์ข้าวมีสี ซึ่งในขั้นนี้ประกอบด้วย 1) ขั้นตอนการเตรียมกล้าเชื้อ

น้ำส้มสายชูหมักแบบเหลว 3 ขั้นตอน ได้แก่ การเตรียมสารผสมของกากข้าวและน้ำ การเตรียมกล้าเชื้อเบื้องต้น และการเตรียมกล้าเชื้อเพื่อใช้ในการหมักน้ำส้มสายชูหมักแบบเหลว และ 2) ขั้นตอนกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวมีสี โดยนำกากข้าวที่เหลือจากการกรองออกของกระบวนการหมักไวน์ผสมเข้ากับน้ำ ถ่ายกล้าเชื้อน้ำส้มสายชูหมักแบบเหลวและไวน์ข้าวที่ได้จากกระบวนการข้างต้นลงไป บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 – 5 วัน แล้วจึงเติมไวน์ข้าวลงไปอีกครั้ง หมักต่อไปอีกที่อุณหภูมห้องเป็นเวลา 5 – 15 วัน จึงสิ้นสุดการหมัก แล้วจึงนำน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวกล้องของข้าวมีสีที่ได้มาพัฒนาเป็นสูตรน้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม 2 สูตร 4 รสชาติ ได้แก่ น้ำส้มสายชูพร้อมดื่มรสทับทิม รสสตรอเบอรี่ รสส้ม และรสน้ำผึ้งมะนาว

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

1. วัตถุดิบ

1.1 สายพันธุ์เห็ดถั่งเช่าสีทอง จากศูนย์อานนท์ไบโอเทค

1.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ได้แก่ ข้าวกล้องมีสี (ข้าวไรซ์เบอรี่) มันฝรั่ง ข้าวโพดฝักอ่อน และสารอาหาร ได้แก่ กลูโคส เปปโตน ยีสต์สกัด วิตามิน และแมกนีเซียมซัลเฟต

1.3 เส้นใยถั่งเช่าสีทองและน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง

1.4 น้ำตาลทราย กรดซิตริก น้ำสับปะรด และเอทิลแอลกอฮอล์ ร้อยละ 95

1.5 ยีสต์ผง *Saccharomyces cerevisiae* ตรา Red Star, Belgium จาก บ.เวชกิจเคมีภัณฑ์ จก.

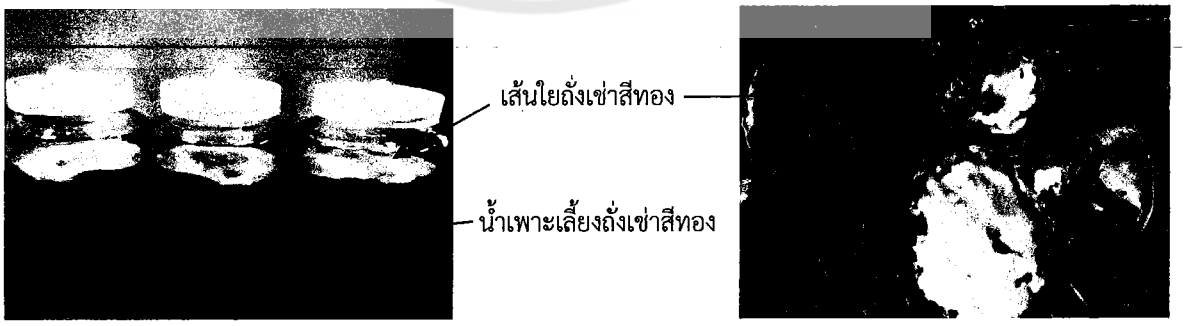
1.6 แบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

2. วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 การศึกษาคุณภาพของวัตถุดิบ

วิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ ได้แก่ น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง และเส้นใยถั่งเช่าสีทอง (ภาพ 1) ดังนี้

- ค่าความเป็นกรดด่าง โดยใช้ pH meter
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้ refractometer
- ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่
  - ปริมาณคอร์ไดซิปิน โดยใช้ HPLC (ภาคผนวก ก)
  - ปริมาณอะดีโนซีน โดยใช้ HPLC (ภาคผนวก ก)
- ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่
  - ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocalteu (ภาคผนวก ก)
  - ค่าการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH (ภาคผนวก ก)



ภาพ 1 วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษา: น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง

ตอนที่ 2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์

นำน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองมาเจือจางด้วยน้ำสะอาดในอัตราส่วน 1 : 20 (แทนด้วย Liq) และเส้นใยถั่งเช่าสีทองเจือจางด้วยน้ำสะอาดในอัตราส่วน 1 : 20 (แทนด้วย Myc) จากนั้นนำไปผสมกับน้ำสับปะรดตามอัตราส่วน ดังต่อไปนี้

2.1 กำหนดอัตราส่วนของน้ำเพาะเลี้ยงและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง ต่อน้ำสับปะรดโดยน้ำหนัก ได้แก่

น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง

1) น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่า : น้ำสับปะรด = 100 : 0 (แทนด้วย AlcLiq100)
2) น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่า : น้ำสับปะรด = 80 : 20 (แทนด้วย AlcLiq80)
3) น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่า : น้ำสับปะรด = 60 : 40 (แทนด้วย AlcLiq60)
4) น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่า : น้ำสับปะรด = 0 : 100 (แทนด้วย AlcLiqCtl เป็นสูตรควบคุม)

เส้นใยถั่งเช่าสีทอง

1) เส้นใยถั่งเช่า : น้ำสับปะรด = 100 : 0 (แทนด้วย AlcMyc100)
2) เส้นใยถั่งเช่า : น้ำสับปะรด = 80 : 20 (แทนด้วย AlcMyc80)
3) เส้นใยถั่งเช่า : น้ำสับปะรด = 60 : 40 (แทนด้วย AlcMyc60)
4) เส้นใยถั่งเช่า : น้ำสับปะรด = 0 : 100 (แทนด้วย AlcMycCtl เป็นสูตรควบคุม)

2.2 การเตรียมน้ำหมัก

เตรียมน้ำหมักโดยเติมน้ำสับปะรดในอัตราส่วนที่กำหนดไว้ วัดปริมาณกรดและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำหมัก ปรับน้ำหมักให้มีปริมาณกรดร้อยละ 0.45 โดยใช้กรดซิตริก (citric acid) ปรับให้เป็นกรด และแคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate: $CaCO_3$) ปรับให้เป็นด่าง และปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเป็น 20 องศาบริกซ์ โดยใช้น้ำตาลทรายขาว เติมไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (di-ammonium hydrogenphosphate: DHP) 0.3 กรัมต่อลิตร และเติมวิตามินบี 1 ปริมาณ 0.6 กรัมต่อลิตร ถ่ายน้ำหมักลงในภาชนะสำหรับหมักที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยเติมโพแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (potassium metabisulphite: KMS) 0.2 กรัมต่อลิตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

2.3 การเตรียมหัวเชื้อ

เติมเชื้อ *S. cerevisiae* ปริมาณ 0.5 กรัมต่อน้ำหมัก 1 ลิตร (จากข้อ 2.2) ละลายเชื้อ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพื่อกระตุ้นเชื้อยีสต์ให้ทำงานก่อนเติมลงในถังหมัก

2.4 ขั้นตอนการหมัก

เติมหัวเชื้อ (จากข้อ 2.3) ปริมาตรร้อยละ 10 ลงในน้ำหมัก (จากข้อ 2.2) ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส จนกว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำหมัก (ไวน์) ลดลงเป็น 6 องศาบริกซ์ จากนั้นยุติการหมักโดยเติมโพแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 0.2 กรัมต่อลิตร ระหว่างการหมักเก็บตัวอย่างทุก 3 วัน เพื่อวิเคราะห์คุณภาพ ดังนี้

- ค่าความเป็นกรดด่าง โดยใช้ pH meter
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้ refractometer
- ปริมาณแอลกอฮอล์ โดยใช้ ebulliometer
- ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ* ได้แก่
    - ปริมาณคอร์ไดซิปิน โดยใช้ HPLC
    - ปริมาณอะดีโนซีน โดยใช้ HPLC
- ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ* ได้แก่
    - ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocalteu

- ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH

หมายเหตุ *วัดเฉพาะในตัวอย่างสุดท้ายที่คัดเลือกได้

ขั้นตอนการหมักแอลกอฮอล์จากน้ำเพาะเลี้ยงและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง แสดงในภาคผนวก ข

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างของสิ่งทดลองด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ ANOVA และหากสิ่งทดลองมีความแตกต่างกันจะทำการทดสอบต่อด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05

ตอนที่ 3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติก

ศึกษาปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมในการหมักน้ำส้มสายชู โดยคัดเลือกน้ำหมักจากการทดลองที่ 2 ที่มีปริมาณแอลกอออล์สูงสุดและใช้ระยะเวลาสั้นที่สุดมาใช้ในการศึกษา

3.1 ปรับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์เริ่มต้น 3 ระดับ คือ ร้อยละ 6, 9, 12 ของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง คือ

<u>น้ำหมักจากน้ำเพาะถั่งเช่าสีทอง</u>

1) น้ำหมักน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าที่มีแอลกอฮอล์เริ่มต้น 6% (แทนด้วย AceLiq6)
2) น้ำหมักน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าที่มีแอลกอฮอล์เริ่มต้น 9% (แทนด้วย AceLiq9)
3) น้ำหมักน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าที่มีแอลกอฮอล์เริ่มต้น 12% (แทนด้วย AceLiq12)

<u>น้ำหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทอง</u>

1) น้ำหมักเส้นใยถั่งเช่าที่มีแอลกอฮอล์เริ่มต้น 6% (แทนด้วย AceMyc6)
2) น้ำหมักเส้นใยถั่งเช่าที่มีแอลกอฮอล์เริ่มต้น 9% (แทนด้วย AceMyc9)
3) น้ำหมักเส้นใยถั่งเช่าที่มีแอลกอฮอล์เริ่มต้น 12% (แทนด้วย AceMyc12)

3.2 การเตรียมหัวเชื้อน้ำส้มสายชู

เทน้ำหมักสับปะรด 300 มิลลิลิตร ลงในถาดสแตนเลสที่ฆ่าเชื้อแล้ว เติมเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* TISTR 102 ลงไปร้อยละ 10 ปิดคลุมด้วยแผ่นพลาสติก เจาะรูเล็กๆ ให้ทั่วแผ่นพลาสติก ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมง จะได้หัวเชื้อน้ำส้มสายชู

3.3 การเตรียมน้ำหมัก

นำน้ำหมักที่ผ่านการคัดเลือกได้จากการทดลองที่ 2 มาปรับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ตามอัตราส่วนที่กำหนดไว้ ปรับค่า pH 5.5 เติมน้ำหมักปริมาตร 3 ลิตร (ให้มีความสูงของน้ำหมักประมาณ 1.5 นิ้ว) ลงในภาชนะสำหรับหมัก (ถาดสแตนเลส) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

3.4 ขั้นตอนการหมัก

ถ่ายหัวเชื้อน้ำส้มที่หมักได้จากข้อ 3.2 ร้อยละ 10 ผสมกับน้ำหมักจากข้อ 3.3 ปิดคลุมด้วยแผ่นพลาสติก เจาะรูเล็กๆ ให้ทั่วแผ่นพลาสติก ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง หมักจนมีปริมาณแอลกอฮอล์เหลือน้อยกว่าร้อยละ 0.5 จึงยุติการหมัก ระหว่างการหมักเก็บตัวอย่างทุก 3 วัน เพื่อวิเคราะห์คุณภาพ ดังนี้

- ค่าความเป็นกรดด่าง โดยใช้ pH meter
- ปริมาณกรดอะซิติก โดยใช้ HPLC
- ปริมาณแอลกอฮอล์ โดยใช้ ebuliometer
- ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ* ได้แก่
    - ปริมาณคอร์ไดซิปิน โดยใช้ HPLC
    - ปริมาณอะดีโนซีน โดยใช้ HPLC

- ปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์* ได้แก่
    - ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocalteu
    - ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH

หมายเหตุ *วัดเฉพาะในตัวอย่างสุดท้ายที่คัดเลือกได้

ขั้นตอนการหมักกรดน้ำส้มจากน้ำเพาะเลี้ยงและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง แสดงในภาคผนวก ข และ ค

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCBD ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างของสิ่งทดลองด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ ANOVA และหากสิ่งทดลองมีความแตกต่างกันจะทำการทดสอบต่อด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05

ทำการคัดเลือกสภาวะที่ให้ปริมาณกรดอะซิติกสูงสุดในระยะเวลาที่สั้นที่สุด และยังคงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารแอนติออกซิแดนซ์ ของน้ำหมักจากเส้นใยถั่งเช่า 1 สิ่งทดลอง และน้ำเลี้ยงถั่งเช่า 1 สิ่งทดลอง เพื่อศึกษาต่อไป

ตอนที่ 4 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำส้มสายชูตามมาตรฐาน

วิเคราะห์คุณภาพของน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่า และน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยถั่งเช่าจากสภาวะที่คัดเลือก ตามมาตรฐานน้ำส้มสายชูหมัก มผช. 326/2547 ได้แก่ ปริมาณกรดอะซิติก กรดซัลฟุริก แอลกอฮอล์ตกค้าง และสารปนเปื้อน ได้แก่ สารหนู ทองแดง สังกะสี และเหล็ก (ส่งตรวจวิเคราะห์) (ภาคผนวก ง)

3. สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาเชียงใหม่ ส่งวิเคราะห์ปริมาณสารปนเปื้อน

ระยะเวลาทำการทดลอง ตั้งแต่ ตุลาคม 2561 ถึง กรกฎาคม 2563

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผล

ตอนที่ 1 การศึกษาคุณภาพของวัตถุดิบ

การศึกษาคุณภาพของวัตถุดิบเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์จากน้ำเพาะเลี้ยง และเส้นใยถั่งเช่าสีทอง จากตาราง 3 พบว่า น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองมีค่า pH 6.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 2 °Brix สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ คอร์ไดซิปิน 6,240.10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และอะดีโนซีน 431.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 20.78 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 87.61 ส่วนเส้นใยถั่งเช่าสีทอง พบว่ามีค่า pH 6.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 1.5 °Brix สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ คอร์ไดซิปิน 7,600.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และอะดีโนซีน 393.36 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 11.60 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 48.90

ตาราง 3 คุณภาพวัตถุดิบน้ำเพาะเลี้ยงและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง และน้ำเพาะเลี้ยงและเส้นใยถั่งเช่าสีทองเจือจาง

ลักษณะคุณภาพ	วัตถุดิบ			
	น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง	เส้นใยถั่งเช่าสีทอง	น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองเจือจาง (Liq)	เส้นใยถั่งเช่าสีทองเจือจาง (Myc)
ค่า pH	6.5	6.3	6.7	6.6
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)	2	1.5	0.5	0.2
สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ				
- คอร์ไดซิปิน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	6,240.10	7,600.20	716.20	767.67
- อะดีโนซีน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	431.20	393.36	98.00	109.67
สารต้านอนุมูลอิสระ				
- สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/mL)	20.78	11.60	1.38	1.05
- ค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (%inhibition)	87.61	48.90	53.37	40.61

จากตาราง 3 จะเห็นได้ว่า น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง ยังคงศักยภาพในการมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง ซึ่งสารเหล่านี้มีสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ (Das et al., 2010) ทำให้การนำน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทองมาใช้เป็นอาหารโดยตรงสำหรับเชื้อจุลินทรีย์ในการหมักน้ำส้มสายชู เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักจะถูกยับยั้งการเจริญด้วยฤทธิ์ของถั่งเช่าสีทอง ดังนั้น จึงได้ทำการเจือจางน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทองด้วยน้ำสะอาดในอัตราส่วน 1 : 20 เพื่อให้วัตถุดิบมีความเหมาะสมกับการเจริญของเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์

หลังการเจือจางพบว่า น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองเจือจาง (Liq) และเส้นใยถั่งเช่าสีทองเจือจาง (Myc) มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลง ดังแสดงในตาราง 1 พบว่า Liq มีค่า pH 6.7 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 0.5 °Brix คอร์ไดซิปิน 716.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 98.00 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิก 1.38 mg GAE/mL และมีค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 53.37 ส่วน Myc มีค่า pH 6.6 ปริมาณ

ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 0.2 °Brix คอร์ไดซิปิน 767.67 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 109.67 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิก 1.05 mg GAE/mL และมีค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 40.61

วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ น้ำเพาะเลี้ยงและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง พบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ คอร์ไดซิปินและอะดีโนซีนในปริมาณที่สอดคล้องกับการศึกษาของ ปวีนาและคณะ (2560) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลวจากธัญพืช พบว่า เส้นใยถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว มีปริมาณสารคอร์ไดซิปินและอะดีโนซีนในปริมาณสูง เส้นใยถั่งเช่าสีทองอบแห้งที่เพาะเลี้ยงด้วยวิธีของงานวิจัยนี้ มีปริมาณคอร์ไดซิปิน 4,252 – 8,676 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สูงกว่าผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเห็ดถั่งเช่าที่จำหน่ายทางการค้าที่มีปริมาณคอร์ไดซิปิน 2,654 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Huang, 2010) และมีปริมาณใกล้เคียงกับงานวิจัยของธัญญา และคณะ (2557) ศึกษาวิธีการเตรียมอาหารเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทอง (อาหารเพาะชนิดแข็ง) ที่พบสารคอร์-ไดซิปินในดอกเห็ดถั่งเช่า 8,243.32 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ Solomon (2003) ศึกษาสมบัติทางยาของเห็ดหลายชนิด โดยทำการเลี้ยงให้ได้เส้นใยไมซีเลียมและเลี้ยงในอาหารเหลว พบว่าส่วนของดอกเห็ดมีสารพอลิ-แซคคาไรด์เป็นองค์ประกอบ ส่วนประกอบหลักของพอลิแซคคาไรด์คือเบต้ากลูแคน สามารถต่อต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ สารพอลิแซคคาไรด์ที่ใช้เป็นยาที่พบในเห็ดหลายชนิด เช่น เห็ดกระดุมบราซิล เห็ดพิมาน เห็ดหูหนูขาว เห็ดเข็มทอง ให้ผลที่ดีทั้งสิ้น สารพอลิแซคคาไรด์ที่ได้จากเห็ดไม่ได้เข้าทำลายเซลล์มะเร็งโดยตรง แต่ทำให้เกิดผลกระทบต่อการเจริญของเซลล์มะเร็ง และช่วยให้ผู้ป่วยสามารถสร้างภูมิคุ้มกันขึ้นได้

จากตาราง 3 ในน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดพบสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเส้นใยเห็ด เนื่องจากในการเตรียมเป็นอาหารเหลวสำหรับการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด ประกอบด้วย น้ำสกัดจากมันฝรั่ง น้ำตาลเด็กโทรส เปปโตน ยีสต์สกัด และข้าวโพดฝักอ่อน ทำให้อาหารเหลวที่เหลือหลังจากเก็บเกี่ยวเส้นใยถั่งเช่าสีทองยังคงมีสารอาหาร โดยเฉพาะคอร์ไดซิปิน อะดีโนซีน คาร์โบไฮเดรต และเศษเส้นใยถั่งเช่าสีทองบางส่วนหลงเหลืออยู่ ในขณะที่เส้นใยถั่งเช่าสีทองที่ใช้ในการวิจัย มีเพียงเส้นใยเห็ดที่ไม่มีอาหารเหลวติดมาด้วยหรือมีติดมาเพียงเล็กน้อย จึงทำให้ในน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่า สอดคล้องกับ ประวีณา และคณะ (2557) ศึกษาการผลิตเส้นใยเห็ดแครงและพอลิแซกคาไรด์ด้วยการเลี้ยงแบบกะในอาหารเหลว potato dextrose broth ที่มีการเติม 2% malt extract พบว่าที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 6 วัน ได้ผลผลิตของเส้นใยเห็ดเท่ากับ 8.65 กรัมต่อลิตร และที่ระยะการเวลาการเพาะเลี้ยง 12 วัน ได้ผลผลิตของพอลิแซกคาไรด์รวมเท่ากับ 1.98 กรัมต่อลิตร ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu reagent เท่ากับ 8.54 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระพบว่า สารสกัดจากเส้นใยที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า reducing power เท่ากับ 0.684 และมีกิจกรรมในการจับอนุมูลอิสระ 0.2 mM DPPH ร้อยละ 70.89 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเส้นใยเห็ดแครงมีศักยภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

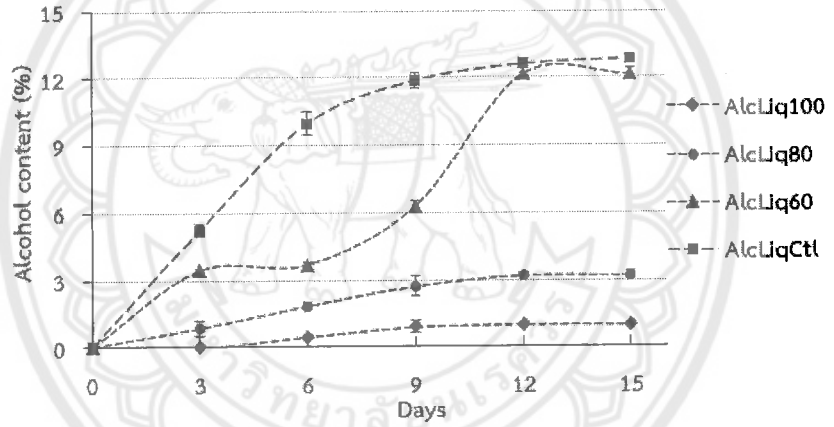
ตอนที่ 2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์

การเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการหมักเพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์จากน้ำเพาะเลี้ยงเส้นใยถั่งเช่าสีทอง 4 สูตร ได้แก่ น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง : น้ำสับปะรด ในอัตราส่วน 100 : 0 (แทนด้วย AlcLiq100), 80 : 20 (แทนด้วย AlcLiq80), 60 : 40 (แทนด้วย AlcLiq60) และ 0 : 100 (แทนด้วย AlcLiqCtl) และการผลิตแอลกอฮอล์จากเส้นใยถั่งเช่าสีทอง 4 สูตร ได้แก่ เส้นใยถั่งเช่าสีทอง : น้ำสับปะรด ในอัตราส่วน 100 : 0 (แทนด้วย AlcMyc100), 80 : 20 (แทนด้วย AlcMyc80), 60 : 40 (แทนด้วย AlcMyc60) และ 0 : 100 (แทนด้วย AlcMycCtl) โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และค่า pH ผลการศึกษาพบว่า

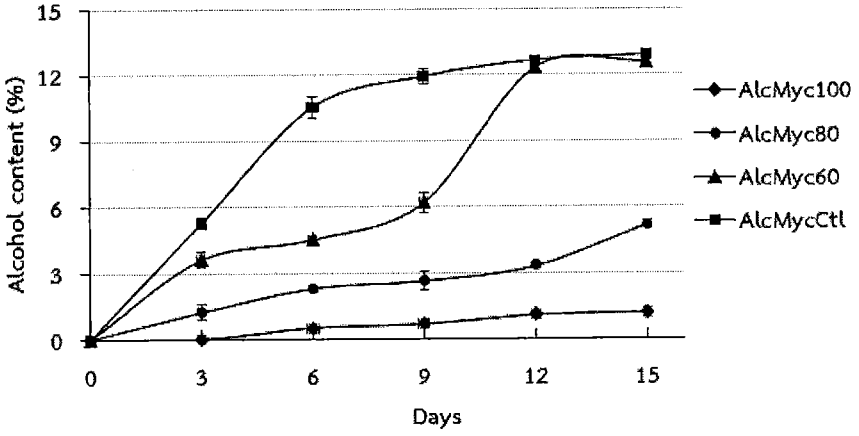
2.1 ปริมาณแอลกอฮอล์

จากการศึกษาอัตราส่วนของน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์ ที่ระยะเวลาการหมัก 15 วัน (ภาพ 2) พบว่า ในวันเริ่มต้นของการหมักทุกตัวอย่างตรวจไม่พบแอลกอฮอล์ โดยแอลกอฮอล์จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (ภาพ 4) AlcLiqCtl มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงกว่าทุกสูตรคือ มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 12.87 รองลงมาคือ AlcLiq60 มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 12.17 ส่วน AlcLiq80 และ AlcLiq100 มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 3.20 และ 1.00 ตามลำดับ

ส่วนการศึกษาอัตราส่วนของเส้นใยถั่งเช่าสีทองที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์ ที่ระยะเวลาการหมัก 15 วัน (ภาพ 3) พบว่า ในวันเริ่มต้นของการหมักทุกตัวอย่างตรวจไม่พบแอลกอฮอล์ โดยแอลกอฮอล์จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการหมักน้ำเพาะเลี้ยง ซึ่งปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่มีปริมาณลดลง (ภาพ 5) โดย AlcMycCtl มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงกว่าทุกสูตรคือ มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 12.87 รองลงมาคือ AlcMyc60 มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 12.57 ส่วน AlcMyc80 และ AlcMyc100 มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 5.17 และ 1.17 ตามลำดับ



ภาพ 2 ปริมาณแอลกอฮอล์ของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 15 วัน



ภาพ 3 ปริมาณแอลกอฮอล์ของน้ำหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 15 วัน

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทองสามารถนำมาหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ เรืองฤทธิ์ และพรชัย (2544) ที่พบว่า เห็ดหลินจือ (เห็ดหมื่นปี) สามารถนำมาหมักไวน์เห็ดหลินจือและไวน์กระเจี๊ยบผสมเห็ดหลินจือ เช่นเดียวกับ วัฒนา (2546) ได้ทดลองทำไวน์เห็ดหัวลิงโดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไวน์ดังกล่าว พบว่าเห็ดหัวลิงสามารถนำมาพัฒนาเป็นไวน์ได้ เช่นเดียวกัน Somprasert and Wongkhamsingh (2006) ศึกษาการผลิตไวน์น้ำเห็ดหอม ที่ต้มจากเห็ดหอม 100 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร พบว่ามีความเหมาะสมต่อการผลิตไวน์น้ำเห็ดหอม และเป็นที่ยอมรับจากผู้ทดสอบด้วยวิธีทางประสาทสัมผัส ในด้านสี ความใส กลิ่น รส และความชอบรวม

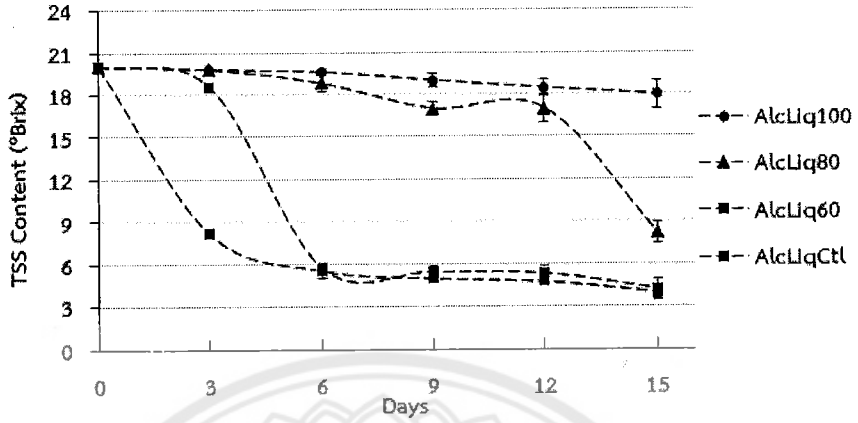
2.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)

จากการศึกษาอัตราส่วนของน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์ โดยปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดให้มีค่าเท่ากันทุกสูตร คือ 20 °Brix พบว่า ตลอดเวลาการหมัก 15 วัน ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลงตามระยะเวลาการหมักที่นานขึ้น (ภาพ 4) เมื่อหมักได้ 6 วัน AlcLiqCtl และ AlcLiq60 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่ำกว่า 6 °Brix คือ 5.70 และ 5.50 °Brix และเมื่อดำเนินการหมักต่อไป ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงตามระยะการหมัก และเมื่อยุติการหมักที่ระยะเวลา 15 วัน ตัวอย่าง AlcLiq100, AlcLiq80, AlcLiq60 และ AlcLiqCtl มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 18.00, 8.17, 4.20 และ 4.00 °Brix ตามลำดับ

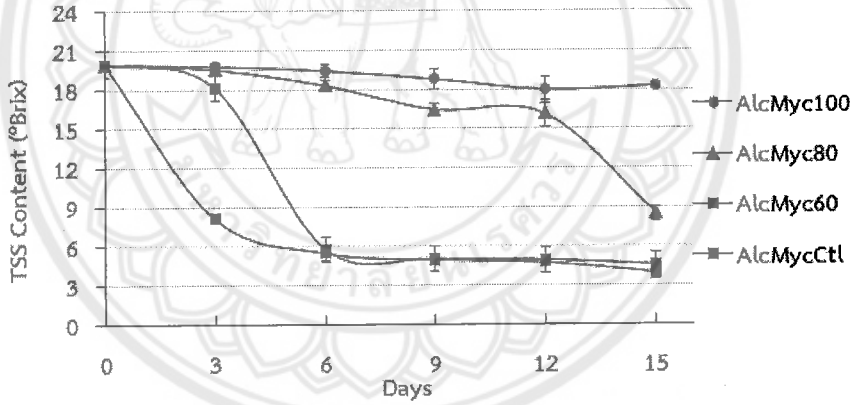
ส่วนการศึกษาอัตราส่วนของเส้นใยถั่งเช่าสีทองที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์ โดยมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากัน คือ 20 °Brix พบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดมีแนวโน้มลดตามระยะการหมักที่นานขึ้น (ภาพ 5) เช่นเดียวกันกับการหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง สอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้น เมื่อหมักได้ 6 วัน พบว่า AlcMycCtl และ AlcMyc60 มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดต่ำกว่า 6 °Brix คือ 5.50 และ 5.70 °Brix และเมื่อดำเนินการหมักต่อไป ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดในทุกตัวอย่างลดลงตามระยะการหมัก และเมื่อยุติการหมักที่ระยะเวลา 15 วัน ตัวอย่าง AlcMyc100, AlcMyc80, AlcMyc60 และ AlcCtlMyc มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 18.30, 8.50, 4.57 และ 4.00 °Brix ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง ที่มีการปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเริ่มต้นที่ 20 °Brix พบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในระหว่างทำการหมักจะเริ่มลดลงตั้งแต่วันที่ 3 จนสิ้นสุดกระบวนการหมัก 15 วัน ซึ่งมีความสอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากในการผลิตแอลกอฮอล์ ยีสต์ที่เติมลงไปจะนำน้ำตาลไปใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการเผาผลาญพลังงาน ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส ฟรุกโตส และแมนโนส ที่ถูกเผาผลาญให้เป็นไพรูเวท (pyruvate) สองโมเลกุล (Bai et al., 2008) ในทางทฤษฎีผลผลิตของเอทานอลอยู่ที่ประมาณ 65 เปอร์เซ็นต์ (v/w) ของปริมาณกลูโคสเริ่มต้น แต่ประสิทธิภาพที่เกิดขึ้นจริงจะลดลงประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากสูญเสียน้ำตาลกลูโคสในการผลิตสารประกอบและใช้ในการเจริญเติบโต (Bai et al., 2008; Raineri and Zambonelli, 2009) สอดคล้องกับ Gaensakoo (2004) ศึกษาการผลิตแอลกอฮอล์จากการหมักน้ำผลไม้โดยใช้เส้นใยเห็ดขอนขาว เห็ดตีนแรด เห็ดโคนน้อย และเห็ดนางรม ในการหมักที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 20 °Brix พบว่าหลังการหมักปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลง แต่ปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น และสอดคล้องกับการศึกษาของ รัฐพล และเสาวรส (2558) ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดแครงบนอาหาร pomelo sucrose agar ที่ความเข้มข้นน้ำส้มโอร้อยละ 60, 80 และ 100 เมื่ออายุการเลี้ยง 15 วัน เส้นใยเห็ดสามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นทั้ง 3 ระดับ และเมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำส้มโอร้อยละ 60, 80 และ 100 ปริมาณกล้าเชื้อเส้นใยเห็ดแครง 5, 10 และ 15 ชิ้น และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 18.0, 20.0 และ 22.0

°Brix หมักเป็นเวลา 30 วัน พบว่าเมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้นปริมาณของแข็งที่ละลายได้และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง แต่ปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น



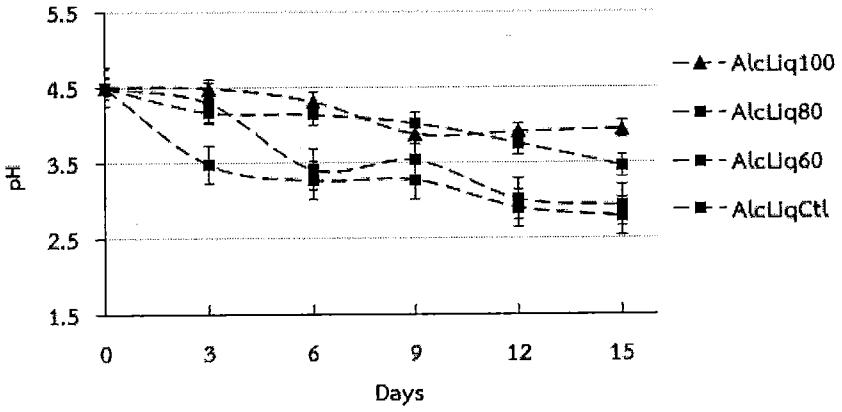
ภาพ 4 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 15 วัน



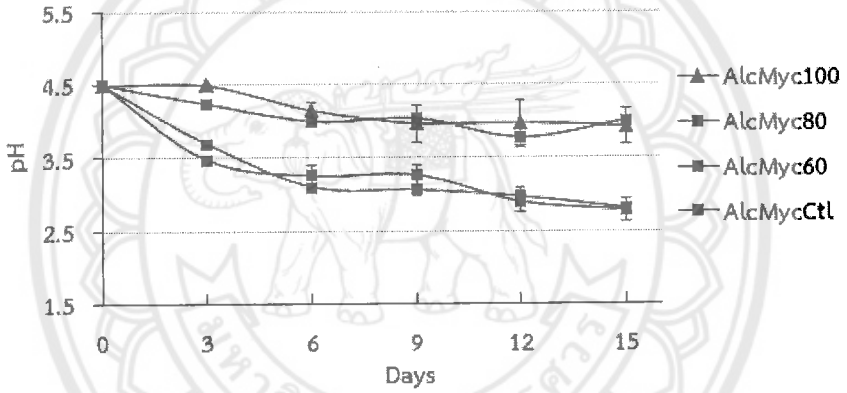
ภาพ 5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 15 วัน

2.3 ค่าพีเอช (pH)

จากการศึกษาพบว่าค่าพีเอชของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองมีแนวโน้มลดตามระยะการหมักที่นานขึ้น (ภาพ 6) สอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น (ภาพ 2) และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลง (ภาพ 4) เมื่อสิ้นสุดการหมัก 15 วัน AlcLiq100, AlcLiq80, AlcLiq60 และ AlcLiqCtl มีค่าพีเอช 3.94, 3.45, 2.93 และ 2.78 ตามลำดับ ส่วนค่าพีเอชของน้ำหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทอง พบว่ามีแนวโน้มลดลงตามระยะการหมักที่นานขึ้น (ภาพ 7) เช่นเดียวกับค่าพีเอชของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ด ค่าพีเอชที่ลดลงสอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น (ภาพ 3) และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่ลดลง (ภาพ 5) เมื่อสิ้นสุดการหมัก 15 วัน AlcMyc100, AlcMyc80, AlcMyc60 และ AlcMycCtl มีค่าพีเอช 3.92, 4.00, 2.79 และ 2.78 ตามลำดับ



ภาพ 6 ค่า pH ของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 15 วัน



ภาพ 7 ค่า pH ของน้ำหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 15 วัน

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์ พบว่า น้ำเพาะเลี้ยงเห็ดและเส้นใยเห็ดสามารถนำมาหมักผลิตภัณฑ์ที่ให้แอลกอฮอล์ได้ หรือที่เรียกว่า ไวน์ โดย AlcLiq60 และ AlcMyc60 สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงกว่าทุกสูตร คือ ร้อยละ 12.17 และ 12.30 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการหมัก 12 วัน จึงได้คัดเลือก AlcLiq60 และ AlcMyc60 มาศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ปริมาณคอร์ไดซิปินและอะดีโนซีน โดยใช้ HPLC และวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH จากการศึกษา (ตาราง 4) AlcLiq60 มีคอร์ไดซินปิน 128.87 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 50.13 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 42.93 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 75.80 ส่วน AlcMyc60 มีคอร์ไดซิปิน 291.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 64.13มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1.11 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 42.93 ซึ่งจะเห็นได้ว่าตัวอย่าง AlcMyc60 ยังคงให้ปริมาณคอร์ไดซิปินและอะดีโนซีนสูงกว่า AlcLiq60 แต่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำกว่า AlcLiq60 เช่นเดียวกับที่พบในวัตถุดิบเริ่มต้นของการหมัก (ตาราง 3)

1049496
- 3 มี.ค. 2565
สำนักหอสมุด

ตาราง 4 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระ ของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง

ลักษณะคุณภาพ	ตัวอย่าง	
	AlcLiq60	AlcMyc60
สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ		
- คอร์ไดซิปิน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	128.87 ± 0.80	291.20 ± 1.30
- อะดีโนซีน (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	50.13 ± 1.55	64.13 ± 0.81
สารต้านอนุมูลอิสระ		
- สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/mL)	1.96 ± 1.54	1.11 ± 0.05
- ค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (%inhibition)	75.80 ± 1.55	42.93 ± 0.95

ตอนที่ 3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติก

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติก โดยคัดเลือกจากน้ำหมักที่ให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด และระยะเวลาที่ใช้ในการหมักน้อยที่สุด จากตอนที่ 2 ได้แก่ ตัวอย่าง AlcLiq60 และ AlcMyc60 มาปรับความเข้มข้นของปริมาณแอลกอออล์ให้เป็นร้อยละ 6, 9 และ 12 และปรับพีเอชของน้ำหมักทุกตัวอย่างให้มีค่าพีเอชเริ่มต้น 5.5 โดยมีตัวอย่าง AlcLiq60 3 อัตราส่วน คือ AceLiq6, AceLiq9, AceLiq12 และ AlcMyc60 3 อัตราส่วน คือ AceLiq6, AceLiq9, AceLiq12 ตรวจวิเคราะห์ทุก 3 วัน พบว่า

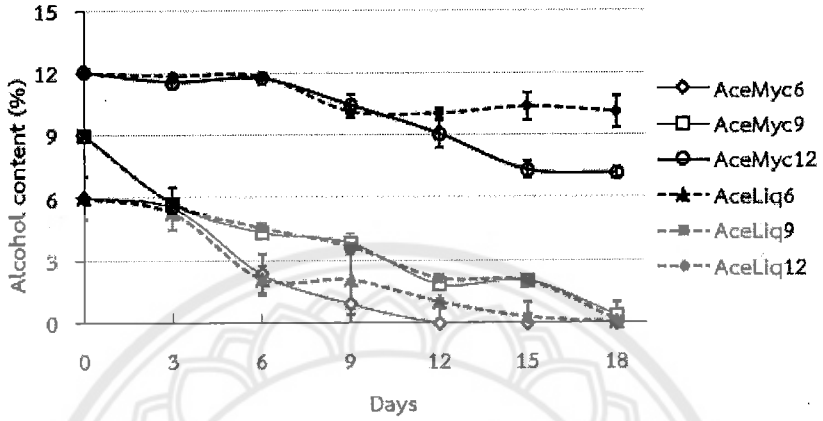
ตัวอย่าง AceLiq6 และ AceMyc6 ซึ่งมีแอลกอฮอล์เริ่มต้นร้อยละ 6 จะมีปริมาณแอลกอฮอล์ลดลง (ภาพ 8) โดยเริ่มเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดน้ำส้ม (กรดอะซิติก) ตั้งแต่วันที่ 3 ของการหมัก (ภาพ 9) สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของกรดอะซิติกตั้งแต่วันที่ 3 ของการหมัก ในตัวอย่าง AceLiq6 และ AceMyc6 คือร้อยละ 0.14 และ 0.16 และเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 18 ของการหมัก โดย AceLiq6 และ AceMyc6 มีปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 5.43 และ 5.52 ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณกรดอะซิติกสูงกว่าที่มาตรฐานน้ำส้มสายชูหมัก มผช.326/2547 กำหนดไว้ให้ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 4 และยุติการหมักในวันที่ 18 โดยพิจารณาจากปริมาณแอลกอฮอล์ที่ลดต่ำกว่าร้อยละ 0.5

ตัวอย่าง AceLiq9 และ AceMyc9 ซึ่งมีแอลกอฮอล์เริ่มต้นร้อยละ 9 จะมีปริมาณแอลกอฮอล์ลดลง (ภาพ 8) โดยเริ่มเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดน้ำส้มตั้งแต่วันที่ 6 ของการหมัก (ภาพ 9) และมีการเพิ่มขึ้นของกรดอะซิติกตั้งแต่วันที่ 6 ของการหมัก ในตัวอย่าง AceMyc9 และ AceLiq9 คือร้อยละ 0.78 และ 0.73 และเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 18 ของการหมัก โดย AceLiq9 และ AceMyc9 มีปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 3.82 และ 3.47 ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณกรดอะซิติกต่ำกว่าที่มาตรฐานน้ำส้มสายชูหมัก มผช.326/2547 กำหนดไว้ และยุติการหมักในวันที่ 18 โดยพิจารณาจากปริมาณแอลกอฮอล์ที่ต่ำกว่าร้อยละ 0.5

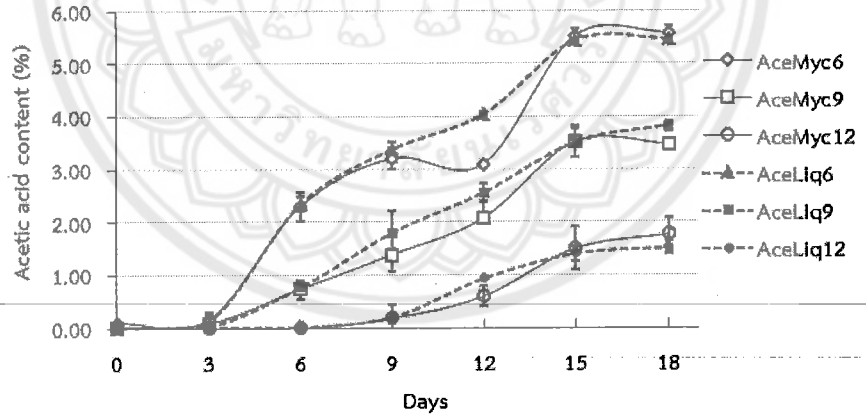
ตัวอย่าง AceLiq12 และ AceMyc12 ซึ่งมีแอลกอฮอล์เริ่มต้นร้อยละ 12 จะมีปริมาณแอลกอฮอล์ลดลง (ภาพ 8) โดยเปลี่ยนเป็นกรดน้ำส้มได้ค่อนข้างต่ำและใช้ระยะเวลานานกว่าทุกตัวอย่าง ที่ระยะเวลาการหมัก 18 วัน มีปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 1.77 และ 1.51 และมีปริมาณแอลกอฮอล์เหลืออยู่ร้อยละ 7.18 และ 10.10 ตามลำดับ

จะเห็นได้ว่า น้ำหมักที่มีแอลกอฮอล์เริ่มต้นสูงคือ ร้อยละ 9 และ 12 มีการเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกได้ต่ำกว่าน้ำหมักที่มีแอลกอฮอล์เริ่มต้นร้อยละ 6 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแบคทีเรีย *A. aceti* ถูกยับยั้งการเจริญที่ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่สูงเกิน ทำให้มีการใช้แอลกอฮอล์เพื่อเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกได้น้อยมาก แต่หากทิ้งระยะเวลาการหมักให้นานขึ้นอาจทำให้เกิดการหมักเป็นกรดน้ำส้มได้ ดังการศึกษาของ รำไพ และคณะ (2549) ผลิตน้ำส้มสายชูจากมันแกวโดยใช้เชื้อ *A. aceti* TISTR 102 เปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติก ต้อง

ใช้เวลาหมักนาน 8 วัน โดยมีปริมาณกรดอะซิติกสูงสุดที่ 5.8 กรัมต่อลิตร และการศึกษาของ สุภกาญจน์ และคณะ (2553) ผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเม่าแดง ปริมาณกรดที่เหมาะสมในการหมักไวน์คือ ร้อยละ 0.4 และแอลกอฮอล์เริ่มต้นร้อยละ 5 มีการผลิตกรดอะซิติกได้ร้อยละ 4.14 ในขณะที่แอลกอฮอล์เริ่มต้นร้อยละ 6 และ 7 มีการเพิ่มขึ้นของกรดอะซิติกได้ต่ำกว่าและช้ากว่า

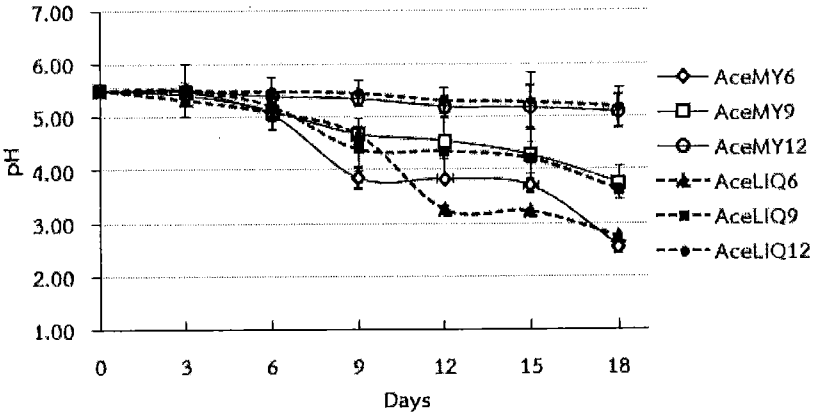


ภาพ 8 ปริมาณแอลกอฮอล์ของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 18 วัน



ภาพ 9 ปริมาณกรดอะซิติกของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 18 วัน

ปริมาณกรดอะซิติกที่เพิ่มขึ้นมีความสัมพันธ์กับค่าพีเอชที่ลดลง (ภาพ 10) ในวันที่ 0 ของการหมักมีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากันทุกสูตรคือ 5.5 และมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะการหมักเพิ่มขึ้น เมื่อสิ้นสุดการหมัก 18 วัน พบว่า AceLiq6, AceLiq9, AceLiq12, AceMyc6, AceMyc9 และ AceMyc12 มีค่าพีเอช 2.74, 3.64,5.19 2.56, 3.75 และ 5.10 ตามลำดับ



ภาพ 10 ค่า pH ของน้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่างๆ ที่ระยะเวลา 18 วัน

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติก พบว่า น้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง (AceLiq6) และน้ำหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทอง (AceMyc6) สามารถนำมาผลิตเป็นน้ำส้มสายชูหมักได้ โดยพบว่า AceLiq6 และ AceMyc6 มีกรดอะซิติกร้อยละ 5.43 และ 5.52 ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าค่ามาตรฐานน้ำส้มสายชูหมัก มผช.326/2547 ที่กำหนดไว้ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 4 ดังนั้น จึงได้คัดเลือก AceLiq6 และ AceMyc6 ซึ่งให้ปริมาณกรดอะซิติกสูงสุด โดยใช้เวลาหมักน้อยที่สุดคือ 15 วัน และใช้แอลกอฮอล์ต่ำสุดคือร้อยละ 6 มาศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ เปรียบเทียบกับตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักทางการค้า ได้แก่ น้ำส้มสายชูหมักจาก แอปเปิล องุ่น และข้าว ดังแสดงในตาราง 5 พบว่า AceLiq6 และ AceMyc6 มีปริมาณคอร์ไดซิปิน 48.53 และ 65.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และมีปริมาณอะดีโนซีน 2.30 และ 6.97 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนน้ำส้มสายชูหมักจากแอปเปิล องุ่น และข้าว ไม่พบคอร์ไดซิปินและอะดีโนซีน เนื่องจากคอร์ไดซิปินและอะดีโนซีนเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญที่พบเฉพาะในถั่งเช่า การศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มสายชูหมัก AceLiq6, AceMyc6, แอปเปิล องุ่น และข้าว พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 2.04, 1.79, 1.42, 0.65 และ 0.22 mg GAE/mL ตามลำดับ และมีค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 78.84, 69.23, 53.43, 25.13 และ 8.50 ตามลำดับ

ตาราง 5 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระ ของน้ำส้มสายชูหมักจากถั่งเช่าสีทองและน้ำส้มสายชูหมักทางการค้า

ตัวอย่าง	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ		สารต้านอนุมูลอิสระ	
	Cordycepin (mg/kg)	Adenosine (mg/kg)	Phenolic cpd. (mg GAE/mL)	DPPH (%)
AceLiq6	48.53 ± 1.10	2.30 ± 0.20	2.04 ± 0.61	78.84 ± 0.88
AceMyc6	65.20 ± 0.70	6.97 ± 0.45	1.79 ± 0.60	69.23 ± 0.45
Apple vinegar	ไม่พบ	ไม่พบ	1.42 ± 1.02	53.43 ± 0.08
Grape vinegar	ไม่พบ	ไม่พบ	0.65 ± 0.50	25.13 ± 0.10
Rice vinegar	ไม่พบ	ไม่พบ	0.22 ± 0.01	8.50 ± 0.10

น้ำส้มสายชูหมักจากถั่งเช่าสีทองจากงานวิจัยนี้ มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำส้มสายชูหมักทั่วไป ทั้งนี้วัตถุดิบที่ใช้ คือ น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง ซึ่งอุดมไปด้วยสารไบโอฟลาโวนอยด์ โพลิฟีนอล และสารประกอบอื่นๆ ที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Dai, 2007) สอดคล้องกับการศึกษาของ Liu et al. (2018) ศึกษาการหมักน้ำส้มสายชูจากอาหารแข็งที่เหลือจากการเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง เทียบกับน้ำส้มสายชูหมักจากข้าว พบว่าน้ำส้มสายชูหมักจากถั่งเช่ามีปริมาณกรดอินทรีย์ ทาร์ทาริก เมทาโนอิก และแลกติก สูงกว่าน้ำส้มสายชูหมักจากข้าว มีสารต้านออกซิเดชัน คอร์ไดซิปิน และอะดีโนซีนมากกว่า มีกรดอะมิโนอิสระที่ให้รสหวานและรสอูมามิมากกว่า และมีสารที่ให้กลิ่นรส โดยเฉพาะกลิ่นรสผลไม้ (fruity) เช่น เอสเทอร์ และกรด ช่วยปรับปรุงกลิ่นรสของน้ำส้มสายชูหมักให้ดีขึ้น ส่วน Pholpradi and Puangnak (2010) ได้เสริมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของไวน์น้ำสับปะรดโดยใช้เห็ดหมื่นปีปริมาณ 0 5 10 และ 15 กรัม ต่อน้ำสับปะรด 1 ลิตร ซึ่งเป็นที่ยอมรับจากผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสในด้านสี ความใส กลิ่น รส และความชอบรวม

ตอนที่ 4 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำส้มสายชูหมักตามมาตรฐาน

การวิเคราะห์คุณภาพน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง ที่คัดเลือกได้จากตอนที่ 3 โดยเลือกสูตรที่ให้ปริมาณกรดอะซิติกสูงกว่าทุกสูตรมาวิเคราะห์ตามมาตรฐานน้ำส้มสายชูหมัก (มผช.326/2547) จากตาราง 6 พบว่า AceLiq6 และ AceMyc6 มีปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 5.65 และ 5.43 ซึ่งไม่น้อยกว่าเกณฑ์มาตรฐานกำหนด มีปริมาณแอลกอฮอล์ AceLiq6 และ AceMyc6 ร้อยละ 0.17 ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานกำหนด และตรวจไม่พบสารปนเปื้อน ได้แก่ สารหนู ตะกั่ว ทองแดง สังกะสี และกรดกำมะถัน ส่วนปริมาณเหล็ก AceLiq6 และ AceMyc6 พบ 1.81 และ 0.72 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งเป็นปริมาณที่ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานกำหนด ดังนั้น น้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงและเส้นใยถั่งเช่าสีทองจากงานวิจัยนี้จึงมีคุณภาพได้ตามเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนที่กำหนดไว้

ตาราง 6 คุณภาพน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน น้ำส้มสายชูหมัก

ลักษณะทดสอบ	ตัวอย่าง		
	มผช.น้ำส้มสายชูหมัก	AceLiq6	AceMyc6
ปริมาณกรดน้ำส้ม (%) (กรดอะซิติก)	ไม่น้อยกว่า 4.00	5.65	5.43
ปริมาณแอลกอฮอล์ (%)	ไม่เกิน 5.00	0.17	0.17
ปริมาณสารปนเปื้อน			
- สารหนู (As; mg/kg)	ไม่เกิน 1.00	ไม่พบ	ไม่พบ
- ตะกั่ว (Pb; mg/kg)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
- ทองแดง (Cu; mg/kg)	ไม่เกิน 10.00	ไม่พบ	ไม่พบ
- สังกะสี (Zn; mg/kg)	ไม่เกิน 10.00	ไม่พบ	ไม่พบ
- เหล็ก (Fe; mg/kg)	ไม่เกิน 10.00	1.81	0.72
ปริมาณกรดกำมะถัน (Mineral acid)	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ

บทที่ 5
สรุป

1. การศึกษาคุณภาพของวัตถุดิบ ได้แก่ น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง มีค่าพีเอช 6.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 2 °Brix คอร์ไดซิปิน 6,240.10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 431.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 20.78 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 87.61 ส่วนเส้นใยถั่งเช่าสีทอง มีค่าพีเอช 6.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 1.5 °Brix คอร์ไดซิปิน 7,600.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 393.36 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 11.60 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 48.90

2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอลกอฮอล์ พบว่า น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทองสามารถนำมาหมักให้เป็นไวน์ได้ ซึ่ง AlcLiq60 และ AlcMyc60 สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงกว่าทุกสูตร คือร้อยละ 12.17 และ 12.57 ที่ระยะเวลาการหมัก 15 วัน AlcLiq60 มีคอร์ไดซิปิน 128.87 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 50.13 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 42.93 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 75.80 ส่วน AlcMyc60 มีคอร์ไดซิปิน 291.20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม อะดีโนซีน 64.13 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1.11 mg GAE/mL และค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 42.93

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติก พบว่า น้ำหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง AceLiq6 และน้ำหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทอง AceMyc6 ให้ปริมาณกรดอะซิติกสูงสุด คือร้อยละ 5.43 และ 5.52 เมื่อสิ้นสุดการหมัก 18 วัน โดยใช้ปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้นต่ำสุดคือร้อยละ 6 ซึ่ง AceMyc6 และ AceLiq6 สามารถนำมาหมักให้เป็นน้ำส้มสายชูหมักได้โดยมีปริมาณกรดอะซิติกสูงกว่าค่ามาตรฐานน้ำส้มสายชูหมักที่กำหนดไว้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 4 นอกจากนี้ยังมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำส้มสายชูหมักทางการค้า โดยมีคอร์ไดซิปิน 48.5 และ 65.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และอะดีโนซีน 2.3 และ 7.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 2.0 และ 1.8 mg GAE/mL และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 78.8 และ 69.2 เมื่อเทียบกับน้ำส้มสายชูหมักทางการค้าจากแอปเปิล องุ่น และข้าวที่มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 0.2 – 1.4 mg GAE/mL และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 9 – 53

4. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำส้มสายชูหมักตามมาตรฐาน พบว่าน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง มีปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 5.65 และ 5.43 ปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 0.17 และตรวจไม่พบสารปนเปื้อน ได้แก่ สารหนู ตะกั่ว ทองแดง สังกะสี และกรดกำมะถัน ส่วนเหล็กพบ 1.81 และ 0.72 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งทุกลักษณะทดสอบอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนที่กำหนดไว้

บรรณานุกรม

ก้องภพ ปรีชาชาญ. 2542. ไวน์เห็ดหลินจือ. เทคโนโลยีชาวบ้าน. 12(228): 42.

กุลวดี คตชนะเลขา. 2552. การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเวย์เต้าหู้และน้ำเวย์เนยแข็ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เขมพัษ อ้มท้วม มาลัย เมืองน้อย และประมวล ทรายทอง. 2559. กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์ข้าวมีสี และสูตรน้ำส้มสายชูเสริมสุขภาพพร้อมดื่ม. อนุสิทธิบัตร เลขที่ 11546 วันที่ 31 พฤษภาคม 2559.

จงรัก งามดี. 2556. กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก. อนุสิทธิบัตร เลขที่ 8236 วันที่ 22 สิงหาคม 2556.

จิราภรณ์ สอดจิตร์ และกนกกานต์ วีระกุล. 2554. การผลิตน้ำส้มสายชูจากกล้วยน้ำว้า. รายงานวิจัย มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก.

ธนภค ใจมาลัย. 2555. การศึกษาการหมักน้ำส้มสายชูจากข้าว 5 ชนิด. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ธัญญา ทะพิงค์แก มงคล ยะไชย ศุภชัย ศรีธิวงค์ กัญจน์พัชร์ อุปลศิลป์ อภิรดา พรปัณณวิชญ์ อภิชญา ทองทับ และวรรณพร ทะพิงค์แก. 2557. การศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดสมุนไพร ถั่งเช่าสีทอง และการนำไปใช้ประโยชน์. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่, 157 หน้า.

นพกาญจน์ จันทร์เดช. 2552. การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโดยวิธีหมักในสภาพของแข็ง. รายงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

นันทนิตย์ คงวัน. 2541. การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดโดยใช้ระบบหมักแบบ Fixed Bed Reactor. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต.

นิตยา แจ่มใส. 2544. การผลิตน้ำส้มสายชูจากน้ำตาลโตนด. รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.

ประมวล ทรายทอง มาลัย เมืองน้อย และเขมพัษ อ้นท้วม. 2556. กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์ผลไม้. อนุสิทธิบัตร เลขที่ 8337 วันที่ 26 กันยายน 2556.

ประวีณา รังคะวงศ์ ปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์ และรำไพ เกณฑ์สาคู. 2557. การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดแครงในอาหารเหลวและคุณสมบัติของเส้นใยที่ผลิตได้. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 33(5): 420-427.

ประวีณา ลาภา เพ็ญขวัญ ชมปรีดา และวิชัย หฤทัยธนาสันติ์. 2554. การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียวดำกล้อง. วิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปวีนา น้อยทัพ เพชรรุ้ง เสนานุช และจตุรพร รักษ์งาร. 2560. การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลวด้วยธัญพืชต่างชนิด. รายงานวิจัย มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก.

พรชัย ปิ่นวิเศษ. 2552. น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโพด และกรรมวิธีการผลิต. อนุสิทธิบัตร เลขที่ 4865 วันที่ 19 พฤษภาคม 2552.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำส้มสายชูหมัก. 2547. สืบค้นเมื่อวันที่ 16 มิถุนายน พ.ศ. 2557. จาก http://app.tisi.go.th

มาลัย บุญรัตนกรกิจ ฉกามาศ วงศ์ข้าหลวง สิริพร สธนเสาวภาคย์ วันชัย พันธ์ทวี ประมวล ทรายทอง และนิศากร วรวุฒิยานันท์. 2548. การพัฒนาการผลิตน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจากมะพร้าวน้ำหอมเพื่อสุขภาพ. สืบค้นเมื่อวันที่ 10 กรกฎาคม พ.ศ. 2559 จาก http://www.research.ifrpd.ku.ac.th

รัฐพล ศรประเสริฐ์ และเสาวรส แพงน้อย. 2558. ผลิตภัณฑ์เลียนแบบไวน์จากน้ำส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวาด้วยเส้นใยเห็ดแครงในการหมัก. วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 25(3).

รำไพ เกณฑ์สาคู บุษบา ธระเสนา และจาริณี ทิพยมาศ. 2549. การผลิตน้ำส้มสายชูจากน้ำมันแกวโดยเชื้อยีสต์ และ *Acetobacter aceti* TISTR 102. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มมส. 25(1): 1 – 5.

เรืองฤทธิ์ สุขเมือง และพรชัย เรืองก้อน. 2544. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อยีสต์ในการหมักไวน์. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สถาบันราชภัฏจันทรเกษม. กรุงเทพฯ.

วราวุฒิ ครูส่ง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

วริศชนม์ นิลนนท์ และกุลพร พุทธมี. 2553. การหาสภาวะที่เหมาะสมของการหมักน้ำส้มสายชูจากเงาะแบบถาด. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48. สาขาอุตสาหกรรมเกษตร.

วัฒนา วิริวุฒิกร. 2546. คุณภาพของไวน์สมุนไพรไทยบางชนิด. รายงานการวิจัย สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, ปทุมธานี. 51 หน้า

สวรรยา เม้งเกร็ด จักรพงศ์ ประเสริฐแสง และปรัชญา วงษ์มา. 2551. การผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูจากละมุด. ปัญหาพิเศษ มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง. ราชบุรี.

สิทธิสน บวรสมบัติ ดวงกมล เตจาคำ ดารุณี วังเสาร์ วรัลพัชร ปิ่นสุข และโสมศิริ สมถวิล. 2550. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูจากมะเกี๋ยง. ปัญหาพิเศษ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่.

สิริพร แก้วสุริยะ. 2527. การศึกษาวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูจากสับปะรดโดยการหมักวิธีธรรมชาติและใช้เครื่องหมัก. วิทยานิพนธ์ สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.

สุภกาญจน์ พรหมขันธ์ ศุกฤชชญา เหมะธุลิน และพัชริน อุทัยสา. 2555. การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเม่าแดง. การประชุมวิชาระดับชาติเครือข่ายวิจัยสถาบันอุดมศึกษา, 16 – 18 พฤษภาคม 2555, เชียงใหม่. หน้า 1575 – 1587.

อภิชาติ ศรีสอาด และอัมพา คำวงษา. 2556. 8 เห็ดเป็นยา & เห็ดเศรษฐกิจ (ทำเงิน). นาคา อินเตอร์มีเดีย, สมุทรสาคร. 136 หน้า.

อานนท์ เอื้อตระกูล. 2558. เห็ดถั่งเช่า. เอกสารประกอบการฝึกอบรม เห็ดเป็นยา 25 กรกฎาคม 2558 ณ อานนท์ไบโอเทค ปทุมธานี.

เอื้องพลอย ใจลังกา. 2552. การพัฒนาเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำผลหม่อน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาการพัฒนาผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Bai, F.E., Anderson, W.A. and Moo-Young, M. 2008. Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. Biotechnology Advances, 26: 89 – 105.

Dai, J.J. 2007. Summarization of the study on the artificial cultivation of *Cordyceps militaris* link. Journal of Anhui Agricultural Sciences.

Das, S.K., Masuda, M., Sakurai, A. and Sakakibara, M. 2010. Medicinal uses of the mushroom Cordyceps militaris: Current state and prospects. Fitoterapia 81(8): 961 – 968.

Fushimi, T., Suruga, K., Oshima Y., Fukiharu, M., Tsukamoto, Y., and Goda, T. 2006. Dietary acetic acid reduces serum cholesterol and triacylglycerols in rats fed a cholesterol-rich diet. British Journal of Nutrition. 95: 916 – 924.

Gaensakoo, R. 2004. Production of Alcohol in Fruit Wine by Mushroom Mycelia, Programs of Biotechnology, Faculty of Technology Mahasarakham University. (in Thai)

Hatano, T., Edamatsu, R., Hiramatsu, M., Mori, A., Fujita, Y., Yasuhara, T., et al. 1989. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1, 1-picrylhydrazyl radical. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 37: 2016 – 2021.

Huang, J. 2010. Safety assessment of the *Cordyceps militaris* fruit body. Toxicology Letters, 196 supplement: S332 – S333.

Huang, L., Li, Q., Chen, Y., Wang X. and Zhou, X. 2009. Determination and analysis of cordycepin and adenosine in the products of *Cordyceps* spp. Afr. J. Microbiol. 3(12): 957 – 961.

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

Lee, S.W., Yoon, S.R., Kim, G.R., Woo, S.M., Jeong, Y.J., Yeo, S.H., et al. 2012. Effect of nuruk and fermentation method on organic acid and volatile compounds in brown rice vinegar. Food Science and Biotechnology. 21(2): 453 – 460.

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

Li, F.H, Liu, P., Xiong, W.G. and Xu, G.F. 2006. Effects of Cordyceps sinensis on dimethyl-nitrosamine induced liver fibrosis in rats. Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao, 4: 514 – 7.

Lia, J., Guanb, M. and Lic, Y. 2015. Effects of cooking on the contents of adenosine and cordycepin in Cordyceps militaris. Procedia Engineering, 102: 485 – 491.

Liu, L., Chen, Y., Luo, Q., Xu, N., Zhou, M., Gao, B., Wang, C. and Shi, Y. 2018. Fermenting liquid vinegar with higher taste, flavor and healthy value by using discarded *Cordyceps militaris* solid culture medium. Journal of Food Science and Technology. 98: 654 – 660.

Ng T.B. and Wang, H.X. 2005. Pharmacological actions of Cordyceps, a prized folk medicine. J Pharm Pharmacol, 57: 1509 – 19. [PubMed].

Ostman, E., Granfeldt, Y., Persson, L. and Bjorck, I. 2005. Vinegar supplementation lowers glucose and insulin responses and increases satiety after a bread meal in healthy subjects. Eur J Clin Nutr. 59(9): 983 – 8.

Pholpradi, K. and Puangnak, P. 2010. Increasing of free-radical scavenging property in pineapple wine by hed hmuen pee *(Ganoderma lucidum* W. Curt. Fr.). in The

Mushroom Researches and Growers Society of Thailand, Mushroom Thai 2010, Bangkok. (in Thai)

Quettier-Deleu, A.C., Gressier, C.B., Vasseur, A.J., Dine, C.T., Brunet, C.C., Luyckx, C.M., Cazin, C.M., Cazin, C.J., Bailleul, B.C., Trotin, B.F. 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of beckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. Journal Ethnopharmacol., 72: 35 – 42.

Rainieri, S. and Zambonelli, C. 2009. Organisms associated with acetic acid bacteria in vinegar production. In Solieri, L. and Giudici, P. (eds.) Vinegars of the World. 73 – 95. Springer-Verlag, Italy.

Solomon, P.W. 2003. Medicinal Mushrooms: from Anecdotal and Myth Traditions to Modern Biotechnology and Phamacuetics," in Abstract of The 2nd International Conference on Medicinal Mushroom. p. 3. Bangkok : BioThailand.

Sornprasert, R. and Wongkhamsingh, P. 2006. The production of hed hom (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler wine. in The Mushroom Researches and Growers Society of Thailand, Mushroom Thai 2006, Bangkok (in Thai).

Su, M.S. and Chien, P.J. 2007. Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbit eye blueberry *(Vaccinium ashei)* fluid products as affected by fermentation. Food Chemistry, 104: 182 – 187.

Velicanski, A.S., Cvetkovic, D.D., Markov, S.L., Tumbas, V.T. and Savatovic, S.M. 2007. Antimicrobial and antioxidant activity of lemon balm Kombucha. Biblid, 38: 165 – 172.

Wasser, S.P., Didukh, M.Y., Meijer, A. de, Amazonas, M., Nevo, E., Stamets, P. 2002. Is widely cultivated culinary-medicinal mushroom indeed Agaricus blazei Murrill. Int J Med Mushrooms 4.

Wu, D., Meng, L., Wang, L., Lv, G., Cheong, K., Hu, D., Guan, J., Zhao, J. and Li, S. 2014. Chain conformation and immunomodulatory activity of a hyperbranched polysaccharide from *Cordyceps sinensis*. Carbohydrate Polymers, 110: 405 – 414.

Wu, J.Y., Zhang, Q.X. and Leung, P.H. 2007. Inhibitory effects of ethyl acetate extract of *Cordyceps sinensis* mycelium on various cancer cells in culture and B16 melanoma in C57BL/6 mice. Phytomedicine 14(1): 43 – 49.

ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์

- การวิเคราะห์สารคอร์ไดซิปินและอะดีโนซิน
- การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติก
- การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด
- การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

1. การวิเคราะห์ปริมาณคอร์ไดซิปินและอะดีโนซีน (Huang et al., 2009)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1. Cordycepin

ชั่งสาร cordycepin มา 10 มิลลิกรัม เติมน้ำ (HPLC) 10 มิลลิลิตร กวนให้ละลาย จะได้สต๊อกของสารละลายที่มีความเข้มข้น 1,000 ppm จากนั้นทำการเจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้นในช่วง 0 – 100 ppm คือ 0.3 5 10 30 50 และ 100 ppm

2. Adenosine

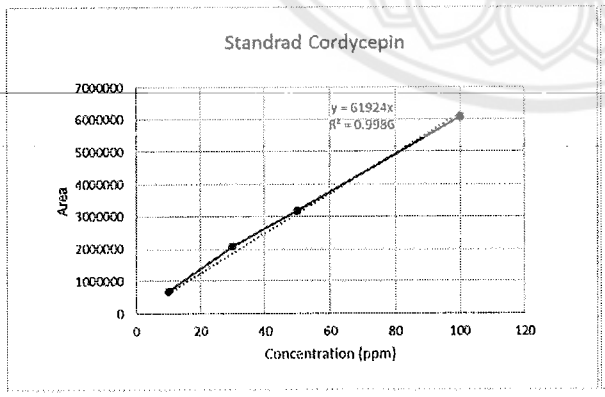
ชั่งสาร adenosine มา 10 มิลลิกรัม เติมน้ำ (HPLC) 10 มิลลิลิตร กวนให้ละลาย จะได้สต๊อกของสารละลายที่มีความเข้มข้น 1,000 ppm จากนั้นทำการเจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้นในช่วง 0 – 100 ppm คือ 0.3 5 10 30 50 และ 100 ppm

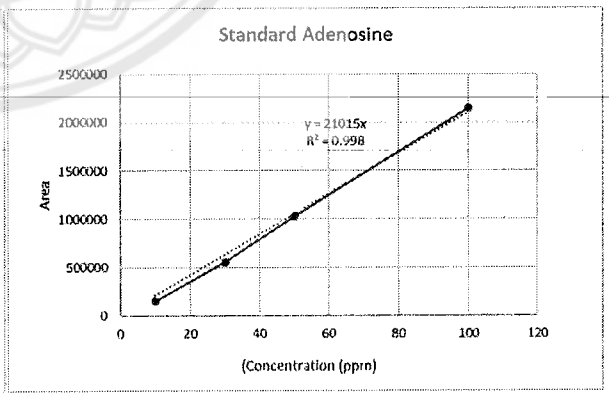
วิธีการเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างปั่นเหวี่ยงที่ 9,000 rpm ที่ 4 °C นาน 15 นาที นำส่วนใสมากรองด้วยกระดาษกรอง cellulose acetate, 0.45 µm และนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ยี่ห้อ SHIMUDZU ประเทศญี่ปุ่น โดยใช้ condition ดังนี้

Condition HPLC

Detector:	UV detector
Wavelength:	254 nm
Mobile:	water : methanol (90:10)
Temp. oven:	35 °C
Flow rate:	0.7 ml/min
Runtime:	35 min
Column:	C18 5 µm
Injection volume:	40 µL



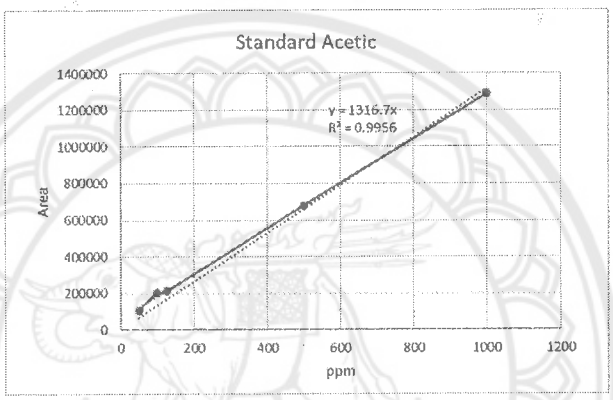


2. การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติก (Lee et al., 2012)

นำตัวอย่างปั่นเหวี่ยงที่ 9,000 rpm ที่ 4 °C นาน 15 นาที นำส่วนใสมากรองด้วยกระดาษกรอง cellulose acetate, 0.45 µm และนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ยี่ห้อ SHIMUDZU ประเทศญี่ปุ่น โดยใช้ condition ดังนี้

Column:	Hydrosphere C18 (250mm x 4.5mm, 5um)
Flow rate:	1 ml/min
Detector:	UV 210 nm
Temperature:	33 °C
Mobile Phase:	50 mM NaH_2PO_4, pH=2.8
Injection:	20 µl
Run time:	30 min

เตรียมสารละลายมาตรฐาน acetic ที่ความเข้มข้น 0.005, 0.0125, 0.0250,0.050 และ 0.100% ฉีดเข้าเครื่อง HPLC และนำค่าพื้นที่ใต้ peak ของสารละลายมาตรฐานมาพล๊อตเป็นกราฟมาตรฐาน และนำพื้นที่ใต้ peak ของตัวอย่างที่ได้มาแทนค่าลงในสมการของกราฟมาตรฐาน



3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Quettier-Deleu et al., 2000)

โดยมีขั้นตอนการตรวจสอบดังนี้

1. เตรียมสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้น 100 ppm โดยการชั่ง gallic acid 100 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร

2. เตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid โดยใช้ปิเปต 0.5 1 1.5 2 3 4 5 6 7 8 ลงในหลอดทดลอง แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 8 มิลลิลิตร

3. นำสารละลายที่ปรับได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis แล้วสร้างกราฟมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 720 nm โดยใช้เอทานอล 95% เป็น blank

4. นำตัวอย่างมา 5 มิลลิลิตร นำไปปรับปริมาตรด้วยเอทานอล 95% ให้ครบ 25 มิลลิลิตร

5. ปั่นเหวี่ยง 5,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วแยกเอาสารละลายใสไปวิเคราะห์

6. ปิเปตสารละลายส่วนใสจากตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร หรือ 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองที่เติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร และเติม Folin-Ciocalteu phenol ปริมาณ 0.3 มิลลิลิตร หรือ 300 ไมโครลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง 30 นาที ในที่มืด

7. เติม 7% Na_2CO_3 ปริมาณ 0.3 มิลลิลิตร หรือ 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและวางไว้อุณหภูมิห้อง 10 นาที ในที่มืด

8. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง 720 nm โดยใช้เอทานอล 95% เป็น blank จากนั้นแทนค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ลงในสูตรค่ามาตรฐานสารละลายแกลลิก จะได้หน่วย ppm หรือ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (Hatano et al., 1989)

โดยมีขั้นตอนการตรวจสอบดังนี้

1. เตรียมสารละลาย DPPH เข้มข้น 1 มิลลิโมล (โดยใช้ DPPH 0.0394 กรัม ละลายในเมทานอล 100 มิลลิลิตร) แล้วปรับให้ครบ 100 มิลลิลิตร

2. นำน้ำตัวอย่างมากรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นปิเปตตัวอย่างน้ำที่กรองได้ 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารลลาย DPPH (1 Mmol/l) 2 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex mixture 3 นาที จากนั้นเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

4. นำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer โดยใช้เอทานอลเป็น blank จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การจับอนุมูลอิสระ DPPH

$$\% \text{ DPPH free radical scavenging activity} = [Ao - A1] / Ao \times 100$$

โดยที่ Ao คือ ค่าการดูดกลืนแสงของแบงก์ (เอทานอล+DPPH) ที่เวลา 4 นาที

A1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (สารสกัดตัวอย่าง + DPPH) ที่เวลา 4 นาที

ภาคผนวก ข ต้นแบบเทคโนโลยีการผลิต

- กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง
- กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

กรรมวิธีการหมักน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง ให้เป็นแอลกอฮอล์ (ไวน์)

เพาะเลี้ยงเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว เป็นเวลา 30 วัน

↓

เก็บเกี่ยวเส้นใยถั่งเช่าสีทอง (ได้เส้นใยเห็ดและน้ำเพาะเลี้ยงเห็ด)

↓

เส้นใยเห็ด / น้ำเพาะเลี้ยงเห็ด ปั่นผสมกับน้ำ ในอัตราส่วน 1 : 20

↓

ผสม เส้นใยเห็ด / น้ำเพาะเลี้ยงเห็ด ต่อ น้ำสับปะรด ในอัตราส่วน
100 : 0, 80 : 20, 60 : 40, 0 : 100

↓

ปรับความหวาน เท่ากับ 20°Brix และ pH เท่ากับ 4.5

↓

แบ่งใส่ขวดแก้วสำหรับหมักตามอัตราส่วนที่กำหนดไว้

↓

เติม KMS 200 ppm ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

↓

ถ่ายหัวเชื้อยีสต์ลงในน้ำหมักแต่ละอัตราส่วน

↓

หมักที่อุณหภูมิห้อง จนปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลงเป็น 6 องศาบริกซ์
จึงยุติการหมัก

↓

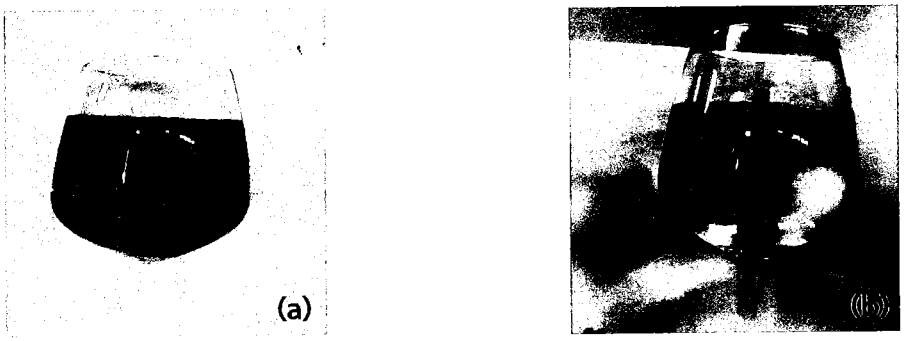
ไวน์

ภาพกรรมวิธีการหมักน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง ให้เป็นแอลกอฮอล์ (ไวน์)

1. เพาะเลี้ยงเส้นใยถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว

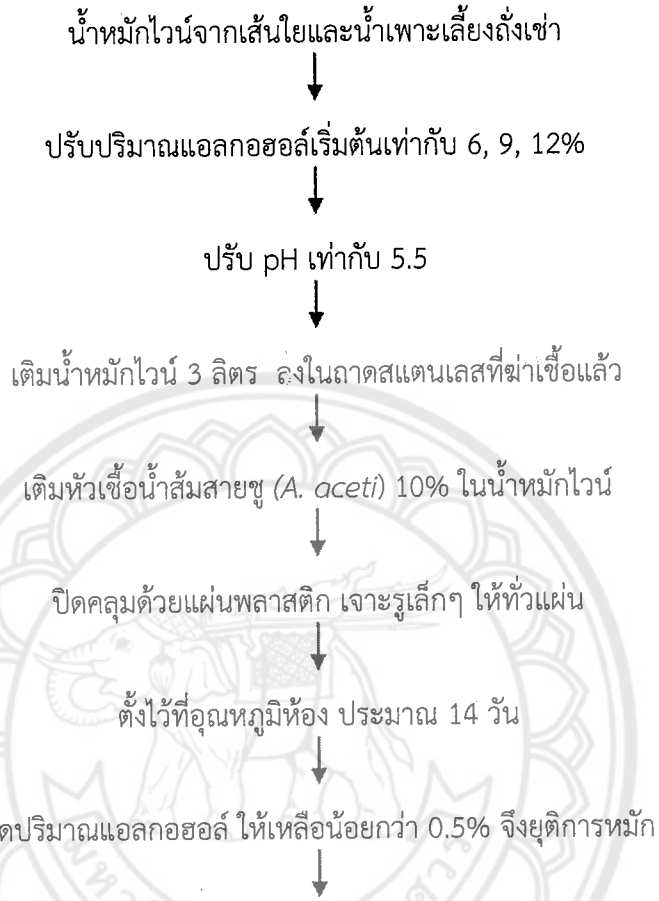
2. ปั่นผสม น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง / เส้นใยถั่งเช่าสีทอง กับน้ำเปล่า อัตราส่วน 1 : 20

3. หมักไวน์ น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง / เส้นใยถั่งเช่าสีทอง

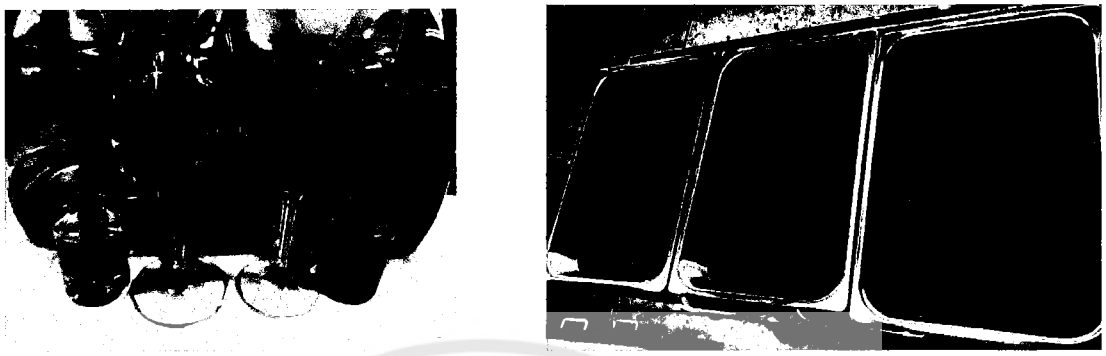


4. ไวน์ น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง (a) / เส้นใยถั่งเช่าสีทอง (b)

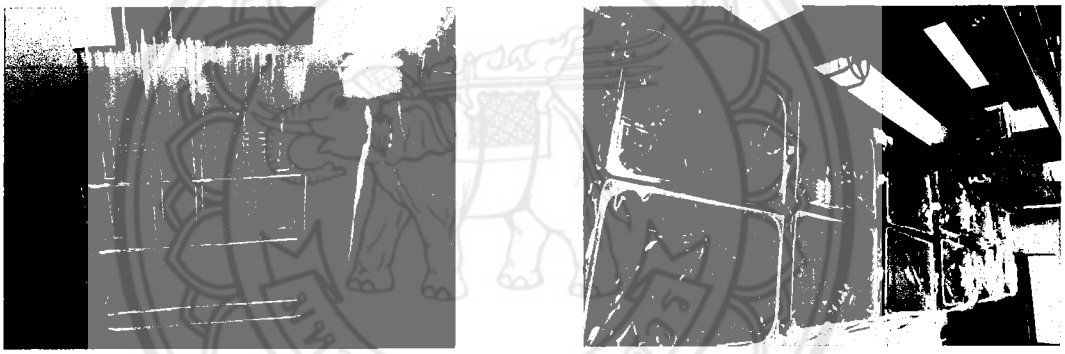
กรรมวิธีการหมักแอลกอฮอล์ (ไวน์) จากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง ให้เป็นน้ำส้มสายชูหมัก



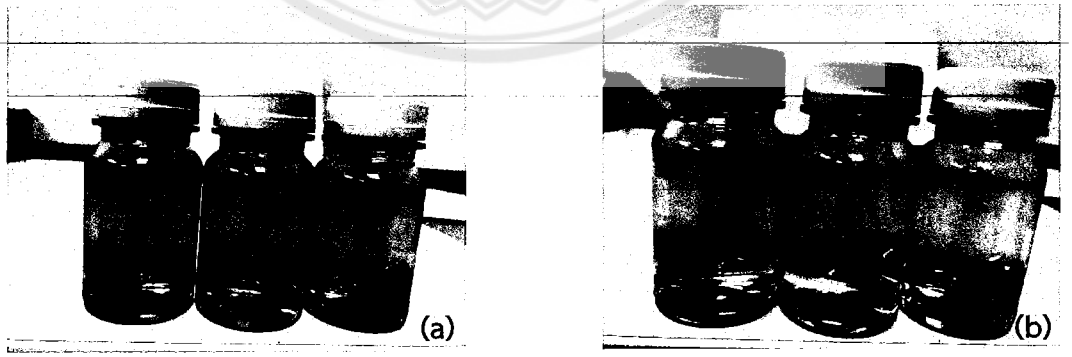
ภาพกรรมวิธีการหมักแอลกอฮอล์ (ไวน์) จากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองและเส้นใยถั่งเช่าสีทอง ให้เป็นน้ำส้มสายชูหมัก



1. น้ำหมักไวน์จากเส้นใยและน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง เติมลงในถาดสแตนเลสที่ฆ่าเชื้อแล้ว



2. เติมหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *(A. aceti)* 10% ลงในน้ำหมักไวน์ ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 14 วัน



3. น้ำส้มสายชูหมัก น้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง (a) / เส้นใยถั่งเช่าสีทอง (b)

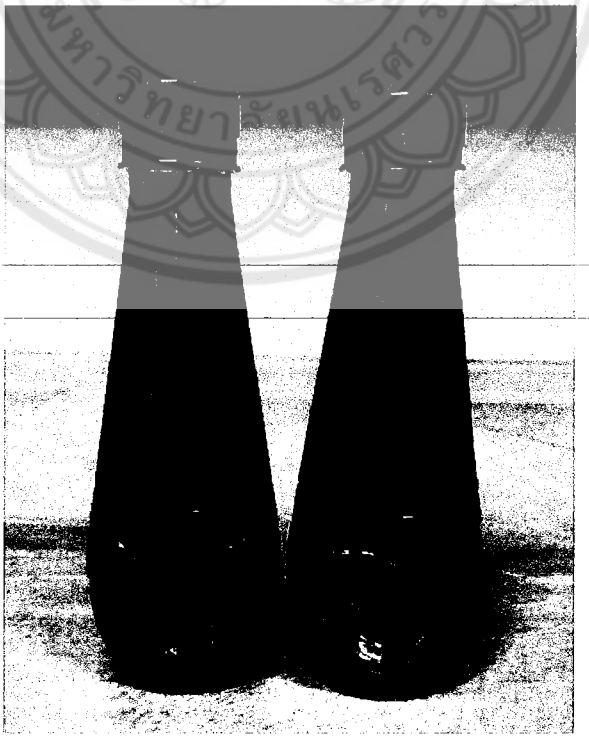
ภาคผนวก ค ต้นแบบผลิตภัณฑ์

- ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง
- ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ต้นแบบผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทอง (a) และ
ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยถั่งเช่าสีทอง (b)

(a) (b)



(a) (b)

ภาคผนวก ง มาตรฐานน้ำส้มสายชู

- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ.2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู
- มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน น้ำส้มสายชูหมัก (มผช.326/2547)

1. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ.2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543 น้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น ต้องมีคุณภาพมาตรฐาน ดังนี้

1. มีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 27 องศาเซลเซียส
2. มีสารปนเปื้อนได้ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
   (ก) สารหนูไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
   (ข) ตะกั่ว ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
   (ค) ทองแดงและสังกะสีไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
   (ง) เหล็ก ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
3. ไม่มีกรดน้ำส้มที่มิได้มาจากการผลิตน้ำส้มสายชูหรือน้ำส้มสายชูกลั่น
4. ไม่มีกรดกำมะถัน (sulfuric acid) หรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น
5. ใส ไม่มีตะกอน เว้นแต่น้ำส้มสายชูหมักตามธรรมชาติ
6. ไม่มีหนอนน้ำส้ม (vinegar eel)
7. ใช้น้ำสะอาดเป็นส่วนผสม
8. ใช้วัตถุเจือปนอาหารได้ดังนี้
   (ก) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ไม่เกิน 70 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
   (ข) กรดแอล-แอสคอร์บิก ไม่เกิน 400 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
9. มีแอลกอฮอล์ตกค้าง ไม่เกินร้อยละ 0.5
10. การแต่งสีให้ใช้น้ำตาลเคี่ยวไหม้หรือสีคาราเมล

2. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน น้ำส้มสายชูหมัก (มผช.326/2547)

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ครอบคลุมเฉพาะน้ำส้มสายชูหมักที่บรรจุในภาชนะบรรจุ โดยให้คำนิยามถึงความหมายไว้ว่า น้ำส้มสายชูหมัก หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำวัตถุดิบที่เหมาะสม เช่น ธัญพืช ผลไม้ น้ำตาล กากน้ำตาล มาหมักกับส่าเหล้า แล้วนำมาหมักกับเชื้อน้ำส้มตามกรรมวิธีธรรมชาติ โดยต้องมีคุณลักษณะดังนี้

1. ลักษณะทั่วไป ต้องเป็นของเหลวใสอาจตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้
2. สี ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของน้ำส้มสายชูหมัก
3. กลิ่น ต้องมีกลิ่นของกรดอะซิติกอาจมีกลิ่นของวัตถุดิบที่ใช้หมักอยู่ด้วยก็ได้
4. สิ่งแปลกปลอม ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น หนอนน้ำส้ม เส้นผม ขนสัตว์ ดินทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์
5. สารปนเปื้อน
   - สารหนู ต้องไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
   - ตะกั่ว ต้องไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
   - ทองแดง ต้องไม่เกิน 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
   - สังกะสี ต้องไม่เกิน 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
   - เหล็ก ต้องไม่เกิน 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
6. วัตถุเจือปนอาหาร ห้ามใช้สีสังเคราะห์ทุกชนิด หากมีการแต่งสี ให้ใช้น้ำตาลเคี่ยวไหม้เท่านั้น หากมีการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ให้ใช้ได้ไม่เกิน 70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
7. ปริมาณกรดอะซิติก กรดอะซิติกต้องไม่น้อยกว่า 5 กรัม ต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

8. กรดกำมะถันหรือกรดแร่อิสระ ต้องไม่พบ
9. เมทานอล ต้องไม่เกิน 420 มิลลิกรัมต่อลิตร

ภาคผนวก จ คำขออนุสิทธิบัตร

- คำขอเลขที่ 2003000692 เรื่อง สูตรและกรรมวิธีการผลิต**น้ำส้มสายชูหมักจาก**น้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง
- คำขอเลขที่ 2003000693 เรื่อง สูตรและกรรมวิธีการผลิต**น้ำส้มสายชูหมักจาก**เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1. คำขอเลขที่ 2003000692 สูตรและกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

รายละเอียดการประดิษฐ์

ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

สูตรและกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับสูตรและกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

ถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) เป็นเห็ดในตระกูลเดียวกับถั่งเช่าแท้หรือถั่งเช่าทิเบต มีส่วนประกอบของสารอาหาร วิตามิน เกลือแร่ และฤทธิ์ทางยาหลายชนิดที่สูงกว่าเห็ดถั่งเช่าแท้ การเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองเป็นเส้นใยเห็ด (mycelium) ในอาหารเหลว (liquid media) จะใช้ระยะเวลาการเลี้ยงสั้นกว่า และลดความเสี่ยงในการปนเปื้อน เมื่อเทียบกับการเลี้ยงจนเป็นดอกเห็ดในอาหารแข็ง (solid media) อย่างที่นิยมเลี้ยงกันในปัจจุบัน จากการศึกษาของคณะผู้วิจัยและได้ทำการขอรับรองอนุสิทธิบัตรตามเลขที่คำขอ 1703001293 เรื่อง กรรมวิธีการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว พบว่า ในอาหารเหลวที่เหลือหลังจากเก็บเกี่ยวเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองออกไปแล้ว ยังคงมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ คอร์ไดซิปิน (cordycepin) และอะดีโนซีน (adenosine) ในปริมาณสูง มีสารอาหาร คาร์โบไฮเดรต และเส้นใยถั่งเช่าบางส่วนหลงเหลืออยู่ ซึ่งอาหารเหลวดังกล่าวยังคงมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักเป็นน้ำส้มสายชูที่มีส่วนประกอบมาจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพชนิดใหม่ และเพื่อการนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ แทนที่จะทิ้งไปเป็นของเสียอย่างที่ทำอยู่ในปัจจุบัน

น้ำส้มสายชูหมัก (fermented vinegar) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักวัตถุดิบประเภทแป้งหรือน้ำตาลกับยีสต์จนกลายเป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นกระบวนการหมักแบบไม่ใช้อากาศ และใช้เชื้อยีสต์ในกลุ่ม *Saccharomyces* โดยยีสต์จะทำการใช้และเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้ได้ออกมาเป็นแอลกอฮอล์ (alcohol) จากนั้นนำแอลกอฮอล์ที่ได้มาเติมแบคทีเรียในกลุ่ม *Gluconobacter* และ *Acetobacter* ให้เกิดการหมักในสภาวะที่มีอากาศ แอลกอฮอล์จากขั้นแรกจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก (acetic acid) ซึ่งวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการหมักมีมากมายหลายชนิด ได้แก่

1. วัตถุดิบประเภทน้ำตาล ได้แก่ น้ำอ้อย กากน้ำตาล และบีทน้ำตาล เป็นต้น
2. วัตถุดิบประเภทแป้ง ได้แก่ ธัญพืช ข้าวโพด มันสำปะหลัง และมันฝรั่ง เป็นต้น
3. วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ ฟางข้าว กากอ้อย ซังข้าวโพด และของเสียจากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษ เป็นต้น

น้ำส้มสายชูหมักนิยมนำมาบริโภคเป็นเครื่องปรุงรสอาหาร หรือนำมาทำเป็นเครื่องดื่ม มีคุณค่าทางโภชนาการ มีสีและกลิ่นรสตามวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพอีกชนิดหนึ่งที่สามารถบริโภคได้ทุกเพศทุกวัย น้ำส้มสายชูหมักมีประโยชน์หลายด้าน เช่น ช่วยลดค่าดัชนีไกลซีมิก ช่วยลดระดับการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลกลูโคสและอินซูลินหลังการรับประทานอาหาร ทำให้ความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบาหวานลดลง

ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของหนูทดลอง และมีผลต่อการลดน้ำหนักเนื่องจากช่วยลดความอยากอาหาร เป็นต้น

<u>ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์</u>

น้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ประกอบด้วย น้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง น้ำผลไม้สกัด น้ำตาล กรด โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (potasslum metabisulfite) หัวเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae,* และหัวเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* กรรมวิธีการผลิตมีขั้นตอนดังนี้ ขั้นตอนการเตรียมน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง, ขั้นตอนการหมักไวน์จากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อให้ได้แอลกอฮอล์ และขั้นตอนการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อให้ได้กรดอะซิติก

ความมุ่งหมายของการประดิษฐ์นี้คือ เพื่อพัฒนาสูตรและกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อให้ได้น้ำส้มสายชูหมักจากวัตถุดิบชนิดใหม่ที่ผลิตจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ คอร์ไดซิปิน และอะดีโนซีน, มีสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compounds) และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ DPPH (DPPH radical scavenging activity) และปริมาณกรดอะซิติก ที่สูงกว่าน้ำส้มสายชูหมักทั่วไป

<u>การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์</u>

สูตรการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่ซึ่งประกอบด้วย

- น้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง	2 – 3	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- น้ำสะอาด	30 – 55	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- น้ำผลไม้สกัด	20 – 40	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- น้ำตาล	10 – 20	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- กรด	0.02 – 0.1	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์	0.01 – 0.05	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- หัวเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*	4 – 8	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- หัวเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti*	8 – 12	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

น้ำผลไม้สกัด เลือกได้จาก แอปเปิ้ล สตรอเบอรี่ หม่อน กล้วย มะม่วง สับปะรด ลูกหีอ ลูกพลับ ส้มโอ แตงโม น้ำมะพร้าว

น้ำตาล เลือกได้จาก น้ำตาลทรายขาว น้ำตาลทรายแดง น้ำตาลมะพร้าว น้ำตาลโตนด

กรด เลือกได้จาก กรดอะซิติก กรดซิตริก กรดแลกติก

กรรมวิธีการเตรียมน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง มีขั้นตอนดังนี้

ก. เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว ที่ประกอบด้วย มันฝรั่ง, ข้าวโพดฝักอ่อน, เด็กโตรส, เปปโตน, ยีสต์สกัด, และน้ำกลั่น เป็นระยะเวลา 30 – 45 วัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด เพื่อให้เห็ดถั่งเช่าสีทองมีการเจริญเติบโต แล้วจึงนำมาให้แสงสว่าง ความเข้มแสง 120 – 180 ลักซ์ ตลอด 24 ชั่วโมง

ที่อุณหภูมิ 20 – 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 – 14 วัน ตามอนุสิทธิบัตรเลขที่คำขอ 1703001293 เรื่อง กรรมวิธีการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว

ข. เก็บเกี่ยวเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองออกจากอาหารเหลวสำหรับเพาะเลี้ยง หลังจากเปิดให้แสงสว่างตามข้อ ก. จะได้เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองไปใช้ประโยชน์ ส่วนน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองซึ่งเป็นของเหลือจากกระบวนการจะถูกนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักน้ำส้มสายชูต่อไป

กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง มีขั้นตอนดังนี้

ก. นำน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ได้จากอาหารเหลวสำหรับเพาะเลี้ยงส่วนที่เหลือหลังจากแยกเส้นใยเห็ดออกไปแล้ว นำมาเจือจางโดยผสมกับน้ำสะอาด

ข. นำสารละลายจาก ข้อ ก. มาผสมกับน้ำผลไม้สกัด และปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วยน้ำตาลให้เป็น 20 – 22 องศาบริกซ์ (°Brix) ปรับค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ด้วยกรดให้เป็น 3.5 – 4.5 จากนั้นทำการฆ่าเชื้อด้วยการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

ค. นำสารละลายจาก ข้อ ข. มาเติมเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* เพื่อหมักเป็นไวน์ บ่มที่อุณหภูมิ 25 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 – 15 วัน นำมากรองแยกกากยีสต์ออกจากน้ำไวน์ จะได้ไวน์จากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 – 15

ง. นำไวน์จาก ข้อ ค. ใส่ลงในภาชนะสำหรับการหมัก (ถาดสแตนเลส) และเติมหัวเชื้อน้ำส้มสายชูจากเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* ลงไป ดำเนินการหมักภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน บ่มที่อุณหภูมิ 25 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 12 วัน จะได้น้ำส้มสายชูหมักที่มีปริมาณกรดอะซิติกไม่น้อยกว่าร้อยละ 4

จ. ต้มฆ่าเชื้อสารละลายจาก ข้อ ง. ที่อุณหภูมิ 70 – 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 – 5 นาที

ฉ. กรองสารละลายจาก ข้อ จ. จะได้น้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

น้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ได้จากกรรมวิธีการผลิตนี้ มีสารต้านอนุมูลอิสระและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สูงกว่าน้ำส้มสายชูหมักทั่วไป โดยมีสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 2.0 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของดีพีพีเอช (DPPH) ร้อยละ 78.8, สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ คอร์ไดซิปิน 48.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และอะดีโนซีน 2.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม, มีปริมาณกรดอะซิติก ร้อยละ 5.5 ที่ระยะเวลาการหมัก 15 วัน ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานกำหนด เมื่อเทียบกับน้ำส้มสายชูหมักทั่วไปจากแอปเปิ้ล, องุ่น, ข้าว ที่มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 0.2 – 1.4 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของดีพีพีเอช (DPPH) ร้อยละ 9 – 53, ไม่พบคอร์ไดซิปิน, ไม่พบอะดีโนซีน และปริมาณกรดอะซิติกตามมาตรฐานกำหนด คือ ร้อยละ 4

<u>วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด</u>

ดังได้บรรยายไว้ในหัวข้อการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

หน้า 1 ของจำนวน 1 หน้า

ข้อถือสิทธิ

1. สูตรการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่ซึ่งประกอบด้วย

- น้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง	2 – 3	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- น้ำสะอาด	30 – 55	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- น้ำผลไม้สกัด	20 – 40	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- น้ำตาล	10 – 20	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- กรด	0.02 – 0.1	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์	0.01 – 0.05	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- หัวเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*	4 – 8	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- หัวเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti*	8 – 12	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

2. สูตรการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ตามข้อถือสิทธิ 1 ที่ซึ่ง น้ำผลไม้สกัด เลือกได้จาก แอปเปิ้ล สตรอเบอรี่ หม่อน กล้วย มะม่วง สับปะรด ลูกท้อ ลูกพลับ ส้มโอ แตงโม น้ำมะพร้าว

3. สูตรการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ตามข้อถือสิทธิ 1 ที่ซึ่ง น้ำตาล เลือกได้จาก น้ำตาลทรายขาว น้ำตาลทรายแดง น้ำตาลมะพร้าว น้ำตาลโตนด

4. สูตรการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ตามข้อถือสิทธิ 1 ที่ซึ่ง กรด เลือกได้จาก กรดอะซิติก กรดซิตริก กรดแลกติก

5. กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ตามข้อถือสิทธิ 1 ถึง 5 ข้อใดข้อหนึ่ง มีขั้นตอนดังนี้

ก. นำน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ได้จากอาหารเหลวสำหรับเพาะเลี้ยงส่วนที่เหลือหลังจากแยกเส้นใยเห็ดออกไปแล้ว นำมาเจือจางโดยผสมกับน้ำสะอาด

ข. นำสารละลายจาก ข้อ ก. มาผสมกับน้ำผลไม้สกัด และปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วยน้ำตาลให้เป็น 20 – 22 องศาบริกซ์ (°Brix) ปรับค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ด้วยกรดให้เป็น 3.5 – 4.5 จากนั้นทำการฆ่าเชื้อด้วยการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

ค. นำสารละลายจาก ข้อ ข. มาเติมเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* เพื่อหมักเป็นไวน์ บ่มที่อุณหภูมิ 25 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 – 15 วัน นำมากรองแยกกากยีสต์ออกจากน้ำไวน์ จะได้ไวน์จากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 – 15

ง. นำไวน์จาก ข้อ ค. ใส่ลงในภาชนะสำหรับการหมัก (ถาดสแตนเลส) และเติมหัวเชื้อน้ำส้มสายชูจากเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* ลงไป ดำเนินการหมักภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน บ่มที่อุณหภูมิ 25 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 12 วัน จะได้น้ำส้มสายชูหมักที่มีปริมาณกรดอะซิติกไม่น้อยกว่าร้อยละ 4

จ. ต้มฆ่าเชื้อสารละลายจาก ข้อ ง. ที่อุณหภูมิ 70 – 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 – 5 นาที

ฉ. กรองสารละลายจาก ข้อ จ. จะได้น้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

หน้า 1 ของจำนวน 1 หน้า

บทสรุปการประดิษฐ์

การประดิษฐ์นี้เป็นการประดิษฐ์ที่เกี่ยวข้องกับสูตรและกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ซึ่งเป็นส่วนของอาหารเหลวสำหรับเพาะเลี้ยงเห็ดที่เหลือหลังจากเก็บเกี่ยวเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองออกไปแล้ว โดยน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ประกอบด้วย น้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง, น้ำผลไม้สกัด, น้ำตาล, กรด, โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์, หัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae,* และหัวเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* กรรมวิธีการผลิตมีขั้นตอนดังนี้ ขั้นตอนการเตรียมน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง, ขั้นตอนการหมักไวน์จากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อให้ได้แอลกอฮอล์, และขั้นตอนการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อให้ได้กรดอะซิติก ซึ่งน้ำส้มสายชูหมักที่ได้จากการประดิษฐ์นี้ เป็นน้ำส้มสายชูหมักจากวัตถุดิบชนิดใหม่ที่ผลิตจากน้ำเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ คอร์ไดซิปิน และอะดีโนซีน, มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของดีพีพีเอช(DPPH) และปริมาณกรดอะซิติก ที่สูงกว่าน้ำส้มสายชูหมักทั่วไป

2. คำขอเลขที่ 2003000693 สูตรและกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

รายละเอียดการประดิษฐ์

ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

สูตรและกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับสูตรและกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

ถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) เป็นเห็ดในตระกูลเดียวกับถั่งเช่าแท้หรือถั่งเช่าทิเบต มีส่วนประกอบของสารอาหาร วิตามิน เกลือแร่ และฤทธิ์ทางยาหลายชนิดที่สูงกว่าเห็ดถั่งเช่าแท้ การเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองเป็นเส้นใยเห็ด (mycelium) ในอาหารเหลว (liquid media) จะใช้ระยะเวลาการเลี้ยงสั้นกว่า และลดความเสี่ยงในการปนเปื้อน เมื่อเทียบกับการเลี้ยงจนเป็นดอกเห็ดในอาหารแข็ง (solid media) อย่างที่นิยมเลี้ยงกันในปัจจุบัน แต่เส้นใยเห็ดที่ได้ก็ยังคงมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ คอร์ไดซิปิน (cordycepin) และอะดีโนซีน (adenosine) เช่นเดียวกับในดอกเห็ด นอกจากนี้เส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวยังประกอบไปด้วยนิวคลีโอไซด์ (nucleosides) มากกว่า 10 ชนิด ในปริมาณสูง และมีปริมาณสูงกว่าถั่งเช่าที่ได้จากธรรมชาติ จากการศึกษาของคณะผู้วิจัยและได้ทำการขอรับรองอนุสิทธิบัตรตามเลขที่คำขอ 1703001293 เรื่อง กรรมวิธีการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว พบว่า เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงได้จากอาหารเหลวมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญสูงกว่าในดอกเห็ดที่เลี้ยงในอาหารแข็งแบบเดิม และมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักเป็นน้ำส้มสายชูที่มีส่วนประกอบมาจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพชนิดใหม่ และเพื่อการนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ

น้ำส้มสายชูหมัก (fermented vinegar) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักวัตถุดิบประเภทแป้งหรือน้ำตาลกับยีสต์จนกลายเป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นกระบวนการหมักแบบไม่ใช้อากาศ และใช้เชื้อยีสต์ในกลุ่ม *Saccharomyces* โดยยีสต์จะทำการใช้และเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้ได้ออกมาเป็นแอลกอฮอล์ (alcohol) จากนั้นนำแอลกอฮอล์ที่ได้มาเติมแบคทีเรียในกลุ่ม *Gluconobacter* และ *Acetobacter* ให้เกิดการหมักในสภาวะที่มีอากาศ แอลกอฮอล์จากขั้นแรกจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก (acetic acid) ซึ่งวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการหมักมีมากมายหลายชนิด ได้แก่

1. วัตถุดิบประเภทน้ำตาล ได้แก่ น้ำอ้อย กากน้ำตาล และบีทน้ำตาล เป็นต้น
2. วัตถุดิบประเภทแป้ง ได้แก่ ธัญพืช ข้าวโพด มันสำปะหลัง และมันฝรั่ง เป็นต้น
3. วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส ได้แก่ ฟางข้าว กากอ้อย ซังข้าวโพด และของเสียจากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษ เป็นต้น

น้ำส้มสายชูหมักนิยมนำมาบริโภคเป็นเครื่องปรุงรสอาหาร หรือนำมาทำเป็นเครื่องดื่ม มีคุณค่าทางโภชนาการ มีสีและกลิ่นรสตามวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพอีกชนิดหนึ่งที่สามารถบริโภคได้ทุก

เพศทุกวัย น้ำส้มสายชูหมักมีประโยชน์หลายด้าน เช่น ช่วยลดค่าดัชนีไกลซีมิก ช่วยลดระดับการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลกลูโคสและอินซูลินหลังการรับประทานอาหาร ทำให้ความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบาหวานลดลง ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของหนูทดลอง และมีผลต่อการลดน้ำหนักเนื่องจากช่วยลดความอยากอาหาร เป็นต้น

<u>ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์</u>

สูตรน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง ประกอบด้วย เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง น้ำผลไม้สกัด น้ำตาล กรด โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (potassium metabisulfite) หัวเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*, และหัวเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* กรรมวิธีการผลิตมีขั้นตอนดังนี้ ขั้นตอนการเตรียมเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง, ขั้นตอนการหมักไวน์จากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อให้ได้แอลกอฮอล์ และขั้นตอนการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อให้ได้กรดอะซิติก

ความมุ่งหมายของการประดิษฐ์นี้คือ เพื่อพัฒนาสูตรและกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อให้ได้น้ำส้มสายชูหมักจากวัตถุดิบชนิดใหม่ที่ผลิตจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ คอร์ไดซิปิน และอะดีโนซีน, มีสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compounds) และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ DPPH (DPPH radical scavenging activity) และปริมาณกรดอะซิติก ที่สูงกว่าน้ำส้มสายชูหมักทั่วไป

<u>การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์</u>

สูตรการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง มีส่วนประกอบดังนี้

- เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง	1 – 3	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- น้ำสะอาด	25 – 50	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- น้ำผลไม้สกัด	20 – 35	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- น้ำตาล	10 – 20	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- กรด	0.02 – 0.1	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์	0.01 – 0.05	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- หัวเชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae	4 – 8	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- หัวเชื้อแบคทีเรีย Acetobacter aceti	8 – 12	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองสามารถแทนที่ด้วยลำต้นหรือดอกเห็ดที่ได้จากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

น้ำผลไม้สกัด เลือกได้จาก แอปเปิ้ล สตรอเบอรี่ หม่อน กล้วย มะม่วง สับปะรด ลูกท้อ ลูกพลับ ส้มโอ แตงโม น้ำมะพร้าว

น้ำตาล เลือกได้จาก น้ำตาลทรายขาว น้ำตาลทรายแดง น้ำตาลมะพร้าว น้ำตาลโตนด

กรด เลือกได้จาก กรดอะซิติก กรดซิตริก กรดแลก

กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง มีขั้นตอนดังนี้

ก. นำเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองมาปั่นให้ละเอียด โดยผสมกับน้ำสะอาด

ข. นำสารละลายจาก ข้อ ก. มาผสมกับน้ำผลไม้สกัด และปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วยน้ำตาลให้เป็น 20 – 22 องศาบริกซ์ (°Brix) ปรับค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ด้วยกรดให้เป็น 3.5 – 4.5 จากนั้นทำการฆ่าเชื้อด้วยการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

ค. นำสารละลายจาก ข้อ ข. มาเติมเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* เพื่อหมักเป็นไวน์ บ่มที่อุณหภูมิ 25 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 – 15 วัน นำมากรองแยกกากยีสต์ออกจากน้ำไวน์ จะได้ไวน์จากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 – 15

ง. นำไวน์จาก ข้อ ค. ใส่ลงในภาชนะสำหรับการหมัก (ถาดสแตนเลส) และเติมหัวเชื้อน้ำส้มสายชูจากเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* ลงไป ดำเนินการหมักภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน บ่มที่อุณหภูมิ 25 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 15 วัน จะได้น้ำส้มสายชูหมักที่มีปริมาณกรดอะซิติกไม่น้อยกว่าร้อยละ 4

จ. ต้มฆ่าเชื้อสารละลายจาก ข้อ ง. ที่อุณหภูมิ 70 – 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 – 5 นาที

ฉ. กรองสารละลายจาก ข้อ จ. จะได้น้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

น้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ได้จากการประดิษฐ์นี้ มีสารต้านอนุมูลอิสระและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สูงกว่าน้ำส้มสายชูหมักทั่วไป โดยมีสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1.8 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของดีพีพีเอช(DPPH) ร้อยละ 69.2, สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ คอร์ไดซิปิน 65.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และอะดีโนซีน 7.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม, มีปริมาณกรดอะซิติก ร้อยละ 5.4 ที่ระยะเวลาการหมัก 15 วัน ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานกำหนด เมื่อเทียบกับน้ำส้มสายชูหมักทั่วไปจากแอปเปิ้ล, องุ่น, ข้าว ที่มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 0.2 – 1.4 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร, ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของดีพีพีเอช(DPPH) ร้อยละ 9 – 53, ไม่พบคอร์ไดซิปิน, ไม่พบอะดีโนซีน และปริมาณกรดอะซิติกตามมาตรฐานกำหนด คือ ร้อยละ 4

<u>วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด</u>

ดังได้บรรยายไว้ในหัวข้อการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

หน้า 1 ของจำนวน 1 หน้า

ข้อถือสิทธิ

1. สูตรการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง มีส่วนประกอบดังนี้

- เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง	1 – 3	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- น้ำสะอาด	25 – 50	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- น้ำผลไม้สกัด	20 – 35	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- น้ำตาล	10 – 20	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- กรด	0.02 – 0.1	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์	0.01 – 0.05	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- หัวเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*	4 – 8	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
- หัวเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti*	8 – 12	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

2. สูตรการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง ตามข้อถือสิทธิ 1 ที่ซึ่ง เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง สามารถแทนที่ด้วยลำต้นหรือดอกเห็ดที่ได้จากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3. สูตรการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง ตามข้อถือสิทธิ 1 ที่ซึ่ง น้ำผลไม้สกัด เลือกได้จาก แอปเปิ้ล สตรอเบอรี่ หม่อน กล้วย มะม่วง สับปะรด ลูกท้อ ลูกพลับ ส้มโอ แตงโม น้ำมะพร้าว

4. สูตรการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง ตามข้อถือสิทธิ 1 ที่ซึ่ง น้ำตาล เลือกได้จาก น้ำตาลทรายขาว น้ำตาลทรายแดง น้ำตาลมะพร้าว น้ำตาลโตนด

5. สูตรการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง ตามข้อถือสิทธิ 1 ที่ซึ่ง กรด เลือกได้จาก กรดอะซิติก กรดซิตริก กรดแลกติก

6. กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง มีขั้นตอนดังนี้

ก. นำเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองมาปั่นให้ละเอียด โดยผสมกับน้ำสะอาด

ข. นำสารละลายจาก ข้อ ก. มาผสมกับน้ำผลไม้สกัด และปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วยน้ำตาลให้เป็น 20 – 22 องศาบริกซ์ (°Brix) ปรับค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ด้วยกรดให้เป็น 3.5 – 4.5 จากนั้นทำการฆ่าเชื้อด้วยการเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

ค. นำสารละลายจาก ข้อ ข. มาเติมเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* เพื่อหมักเป็นไวน์ บ่มที่อุณหภูมิ 25 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 – 15 วัน นำมากรองแยกกากยีสต์ออกจากน้ำไวน์ จะได้ไวน์จากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 10 – 15

ง. นำไวน์จาก ข้อ ค. ใส่ลงในภาชนะสำหรับการหมัก (ถาดสแตนเลส) และเติมหัวเชื้อน้ำส้มสายชูจากเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* ลงไป ดำเนินการหมักภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน บ่มที่อุณหภูมิ 25 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 15 วัน จะได้น้ำส้มสายชูหมักที่มีปริมาณกรดอะซิติกไม่น้อยกว่าร้อยละ 4

จ. ต้มฆ่าเชื้อสารละลายจาก ข้อ ง. ที่อุณหภูมิ 70 – 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 – 5 นาที

ฉ. กรองสารละลายจาก ข้อ จ. จะได้น้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง

บทสรุปการประดิษฐ์

การประดิษฐ์นี้เป็นการประดิษฐ์ที่เกี่ยวข้องกับสูตรและกรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยน้ำส้มสายชูหมักจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง ประกอบด้วย เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง น้ำผลไม้สกัด, น้ำตาล, กรด, โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์, หัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae*, และหัวเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* กรรมวิธีการผลิตมีขั้นตอนดังนี้ ขั้นตอนการหมักไวน์จากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อให้ได้แอลกอฮอล์ และขั้นตอนการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์เส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง เพื่อให้ได้กรดอะซิติก ซึ่งน้ำส้มสายชูหมักที่ได้จากการประดิษฐ์นี้ เป็นน้ำส้มสายชูหมักจากวัตถุดิบชนิดใหม่ที่ผลิตจากเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทอง มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ คอร์ไดซิปิน และอะดีโนซีน, มีสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ DPPH และปริมาณกรดอะซิติก ที่สูงกว่าน้ำส้มสายชูหมักทั่วไป