Published Online: 25 Nov 2020

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของคราฟท์เบียร์ไทย

Antioxidation Activity of Thai Craft Beer

นายคณิศร์ ชาญทวีคุณ
6151701257@lamduan.mfu.ac.th
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ดร.ถวนันท์ ศรีพิสุทธิ์
tawanun.sri@mfu.ac.th
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีการนำเบียร์มาใช้ในการดูแลความงามด้านผมและผิว แต่อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยในเรื่องฤทธิ์ทางเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของเบียร์จากผู้ประกอบการขนาดเล็กในประเทศไทยอยู่น้อยมาก การศึกษานี้ทำการศึกษาเบียร์ที่พัฒนาสูตรโดยคนไทย 4 ชนิด ได้แก่ Good Boy, Honey Bomb, Happy Land และ Kiss Me Deadly ซึ่งผลิตโดยบริษัทบ้านนอกเบียร์ โดยเตรียมตัวอย่างด้วยการใช้อ่างส่งคลื่นความถี่สูงเพื่อกำจัดแก๊ส และระเหยตัวทำละลาย ด้วยเครื่องระเหยแบบควบคุมความดัน และเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ตามลำดับ จากการทดลองพบว่า สารสกัดเบียร์ทั้ง 4 ชนิด มีลักษณะเป็นของแข็ง โดยเบียร์ Kiss Me Deadly ได้ผลผลิตมากที่สุดคือร้อยละ 3.67 สารสกัดเบียร์ทั้ง 4 ชนิดสามารถละลายได้ในน้ำที่ค่าใกล้เคียงกัน ค่า pH ของสารสกัดเบียร์คือ 4.03– 4.45 สารสกัดมีค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุดที่ความยาวคลื่น 269 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารกลุ่มฟีนอล นอกจากนี้ เบียร์รุ่น Good Boy แสดงปริมาณฟีนิลิกรวมที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteau (133.10 ± 1.90 µg GAE/g extract) และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีกวาดจับอนุมูล DPPH (IC_{50} = 272.68 ± 0.48 µg/ml) และ ABTS (281.12 ± 0.27 mg AEAC /100g extract) มากที่สุด

คำสำคัญ: เบียร์, ฟีนอลิก, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, DPPH, ABTS

Abstract

Nowadays beer is being used as cosmetic ingredient in homemade recipe. However, there is a limited number of scientific researches of using Thai SME craft beer as cosmetic ingredient.

Published Online: 25 Nov 2020

This study selected 4 types of beer, namely Good Boy, Honey Bomb, Happy Land, and Kiss Me Deadly from Bannok Beer brand. The beer extract was prepared by using sonicator bath in which degas was prior carried out and drying process was done by rotary evaporator and freeze dryer to remove ethanol and water, respectively. The beer extracts were solid. The beer extract prepared from Kiss Me Deadly provided the highest yield of 3.67%. All 4 types of beer extract were water soluble in the range 290-313 mg/ml. pH value of beer extract was in the range of 4.03–4.45. All extracts showed the maximum absorption value at 279 nm using UV-Vis spectrophotometer, which indicated phenolic group. Additionally, Good Boy also contained the highest total phenolic content (133.10 ± 1.90 µg GAE/g extract) assayed by Folin-Ciocalteau method and antioxidant activity assayed by DPPH (IC_{50} = 272.68 ± 0.48 µg/ml) and ABTS radical scavenging activities (281.12 ± 0.27 mg AEAC /100g extract).

Keywords: Craft Beer, Phenolic, Antioxidant, DPPH, ABTS

บทนำ

แม้ว่าในสังคมเบียร์ไทยจะถูกมองเป็นเครื่องดื่มในมุมที่ไม่เป็นไปในเชิงสร้างสรรค์ อีกทั้งตามพระราชบัญญัติความคุมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ พ.ศ. 2551 มีการกำหนดข้อห้ามในการควบคุมการจัดจำหน่าย และการสื่อสารทางการตลาดทั้งทางตรงและทางอ้อม ส่งผลให้ธุรกิจที่ดำเนินกิจการด้านอุตสาหกรรมเบียร์มีอุปสรรค์ในการสื่อสารไปถึงกลุ่มเป้าหมาย อย่างไรก็ตามเบียร์แต่มักเป็นที่นิยมของกลุ่มวัยรุ่น วัยทำงาน ตลอดจนผู้สูงอายุ โดยสามารถหาซื้อได้ทั่วไป นอกจากการบริโภคเบียร์ในรูปแบบของเครื่องดื่มแล้ว ในปัจจุบันพบว่ามีการนำเบียร์มาหมักเส้นเพื่อให้เส้นผมนุ่มลื่น และนอกจากนั้นยังมีการนำเบียร์มาชโลมตัวเพื่อให้ผิวหนังไม่ เนื่องจากเบียร์ประกอบด้วยสารในกลุ่ม โพลีฟีนอล (Polyphenol) (Coric, et al., 2015)

จากที่ได้กล่าวมาข้างต้น ผู้วิจัยจึงมีความประสงค์ที่จะศึกษาการนำเบียร์ไทยมาประยุกต์เพื่อใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในทางเครื่องสำอาง อีกทั้งยังสามารถเป็นจุดเริ่มต้นของการพัฒนาในเชิงพาณิชย์สร้างสรรค์ให้กับกลุ่มบริษัทหรืออุตสาหกรรมที่เกี่ยวกับการผลิตเบียร์ ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากเบียร์เพื่อเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันทางเศรษฐกิจของประเทศไทย

Published Online: 25 Nov 2020

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ 4 ชนิด คือ Bannok Beer Good Boy, Bannok Beer Honey Bomb, Bannok Beer Kiss me Deadly (Witbier) และ Bannok Beer Happy Land

ขอบเขตการวิจัย

1. ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเบียร์ สารสำคัญในเบียร์ที่มีผลในทางเครื่องสำอาง
2. เบียร์ที่นำมาใช้ในการทดลองคัดเลือกจากเบียร์ยี่ห้อบ้านนอกเบียร์ 4 ชนิด คือ Bannok Beer Good Boy (Cream Ale), Bannok Beer Honey Bomb (Session IPA), Bannok Beer Kiss me Deadly (Witbier) และ Bannok Beer Happy Land (Lager)
3. ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ (กรด-ด่าง และการละลาย) ปริมาณสารฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเบียร์

การทบทวนวรรณกรรม

เบียร์แบ่งเป็น 2 ประเภทหลัก คือ ลาเกอร์เบียร์ (Lager Beer) และเอลเบียร์ (Ale Beer) โดยลาเกอร์เบียร์ เป็นที่นิยมมากในประเทศไทย เกิดจากการหมักโดยใช้ยีสต์ชนิดจม (*Saccharomyces uvarum*) ที่อุณหภูมิไม่เกิน 5 องศาเซลเซียส หลังจากการหมักแล้วจะเก็บในห้องเย็นอีกหลายเดือน มักมีสีเหลืองและส่วนมากผลิตจากมอลต์ ส่วนเอลเบียร์เกิดจากการหมักด้วยยีสต์ชนิดลอย (*S. cerevisiae*) ที่อุณหภูมิ 12 – 24 องศาเซลเซียส ประมาณ 7-8 วัน มีสีเหลืองทองจนถึงสีน้ำตาลเข้ม

วัตถุดิบและกระบวนการผลิตที่แตกต่างกันของเบียร์แต่ประเทศส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญในเบียร์ที่ จากการศึกษาหาสารประกอบกลุ่มฟีนอลหลักของเบียร์ดำในประเทศอิตาลี พบว่าสารที่พบหลักคือกลุ่ม กรดไฮดรอกซีซินนามิก (Hydroxycinnamic Acids) ได้แก่ กรดเฟอรูลิก (Ferulic Acid), กรดไซแนปติก (Synaptic Acids) และกลุ่ม กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (Hydroxybenzoic Acids) ได้แก่ กรดแกลลิก (Gallic Acid) เป็นต้น (Paiaka, et al., 2017) และเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาหาปริมาณสารกลุ่มโพลีฟีนอลในเบียร์จากสาธารณรัฐเช็ค ด้วยวิธี Solid-Phase Extraction พบสารสำคัญที่มีอยู่ในทุกยี่ห้อตัวอย่างในปริมาณมากคือ คาเทชิน ((+)-Catechin), กรดเฟอรูลิก, กรดซาลิไซลิก (Salicylic Acid) และกรดพาราคูมาริก (para-Coumaric Acid) (Brito, et al., 2007) ในขณะที่เบียร์จากประเทศบราซิลมีปริมาณมีกรดแกลลิกในปริมาณมากกว่าเบียร์ในกลุ่มยุโรป แต่มีกรดเฟอรูลิกในปริมาณที่น้อยกว่าเบียร์ในกลุ่มยุโรป (Moura-Nunes, et al., 2016) แต่เบียร์จากประเทศจีนพบว่ามีกรดแกลลิกและกรดเฟอรูลิกในปริมาณสูง (Chen, et al., 2010) จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสารกลุ่มฟีนอลกับการแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า กรดวานิลลิก

(Vanillic Acid) , กรดคาเฟอิก (Caffeic Acid) , กรดเฟอรูลิก (Ferulic Acid), กรดไซแนปติก (Synaptic Acids), กรดโฟโตคาทาชูอิก (Protocatechuic Acid), 2-5-ไดไฮดรอกซีเบนโซอิก (2,5-Dihydroxybenzoic Acid), กรดแกลลิก (Gallic Acid) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Mitic, et al., 2014)

มีการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอล พบว่าเบียร์ที่ผลิตจากการใช้เมล็ดฮอปมีปริมาณฟีนอลรวม มากกว่าเบียร์ที่ผลิตโดยเติมสารสกัดจากฮอป (Coric, et al., 2015) โดยที่สีของเบียร์ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลรวม อย่างมีนัยสำคัญ (Borbély, et al., 2013) แต่ปริมาณฟีนอลรวม มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Gorjanovic, et al., 2010) และเมื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเบียร์เทียบกับ Trolox C พบว่า ลาเกอร์เบียร์ ได้ค่า 0.6-2.8 มิลลิโมลาร์ และเบียร์ดำซึ่งเป็นประเภทหนึ่งของเบียร์เอลมีค่าเท่ากับ 3.75-12 มิลลิโมลาร์ (Tubaro, 2009) สอดคล้องกับการศึกษาเปรียบเทียบ ลาเกอร์เบียร์ เอลเบียร์ และเบียร์ปราศจากแอลกอฮอล์ ที่ผลิตและจำหน่ายในกลุ่มประเทศยุโรปและเอเชีย พบว่าเอลเบียร์มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าลาเกอร์เบียร์และเบียร์ปราศจากแอลกอฮอล์ (Mitic, et al., 2014) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาองค์ประกอบเคมีและฤทธิ์ชีวภาพในเอลเบียร์ไทย ผู้วิจัยจึงมีความประสงค์ที่จะศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อนำมาเป็นสารออกฤทธิ์ในตำรับเครื่องสำอาง จากเบียร์ 4 ชนิด คือ Good Boy, Honey Bomb, Kiss me Deadly (Witbier) และ Happy Land จากบริษัท ทีซีบีแอล จำกัด

ระเบียบวิธีวิจัย

สารเคมีและเครื่องมือที่ใช้ในการทดลองแสดงในตารางที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

สาร	บริษัท	ประเทศ	เลขที่การผลิต
Bannok Beer Good Boy	TCBL company limited	ไทย	-
Bannok Beer Honey Bomb	TCBL company limited	ไทย	-
Bannok Beer Kiss me Deadly	TCBL company limited	ไทย	-
Bannok Beer Happy Land	TCBL company limited	ไทย	-
Ethanol	บริษัทโสภณ แลป เซ็นเตอร์ จำกัด	ไทย	-
2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH)	Sigma-Aldrich	สหรัฐอเมริกา	SLBZ8095
Ascorbic Acid	Fluka Analytical	จีน	1439568
Gallic Acid	Merch KGaA	เยอรมัน	S6934449449
Methanol	Carloerba	ฝรั่งเศส	V6F535146F
2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (ABTS)	Sigma-Aldrich	สหรัฐอเมริกา	STBG8547
Potassium Persulfate	Sigma-Aldrich	สหรัฐอเมริกา	BCBN9478V

Published Online: 25 Nov 2020

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สาร	บริษัท	ประเทศ	เลขที่การผลิต
Sodium Carbonate	Ajax Finechem	เยอรมัน	1702100462
Acetic Acid	Carloerba	ฝรั่งเศส	P7C009207C
Folin-Ciocaltaeu's phenol reagent	Merch KGaA	เยอรมัน	HC57024401
DMSO	Carloerba	ฝรั่งเศส	P7I026098A

ตารางที่ 2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องมือ	ยี่ห้อ	รุ่น
Rotary Evaporator	Eyela	N-1000
Temperature Controller	Eyela	CCA-1110
Oil Bath	Eyela	OSB-2000
Aspirator	Eyela	A-1000S
Freeze Dryer	Labconco	Freezone 6 Liter
UV-Vis Spectrophotometer	Thermo Scientific	Genesys 10S UV-Vis
Sonicator	Crest	690D

1. การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมเบียร์แต่ละชนิดปริมาณ 1.5 ลิตร กรองเบียร์โดยใช้ผ้าขาวบาง กำจัดแก๊สออกจากเบียร์ด้วยอ่างส่งคลื่นความถี่สูง (Sonicator Bath) เป็นเวลา 30 นาที ระเหย Ethanol ออกจากตัวอย่างโดยใช้เครื่องระเหยแบบควบคุมความดัน (Pressured Control Rotary Evaporator) จนกระทั่งไม่มี Ethanol กลั่นออกมา จากนั้นใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze Dryer) เพื่อระเหยน้ำในเบียร์ (Ammari, 2019) และนำสารสกัดเบียร์แช่ในตู้แช่เย็น เพื่อทดสอบขั้นต่อไป

2. การทดสอบทางกายภาพของสารสกัดเบียร์

การทดสอบการละลาย โดยการประยุกต์วิธีของ Belibagl (Belibagl, et al., 2018) โดยเตรียมตัวทำละลาย น้ำ, เอทานอล, โพรไพลีน ไกลคอล (Propylene Glycol), กลีเซอรีน (Glycerin) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆเติมสารสกัดเบียร์ลงในตัวทำละลาย หลังจากนั้นใช้อ่างส่งคลื่นความถี่สูง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที บันทึกผลปริมาณสูงสุดของสารละลายเบียร์ที่ใส่ในตัวทำละลายแล้วสามารถละลายได้จนหมด

การทดสอบค่าความเป็นกรดด่าง โดยการประยุกต์วิธีของ (Benjakul, et al., 1997) โดยการเตรียมสารสกัดเบียร์ 2.5 กรัม ละลายในน้ำ 10 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องโซนิเคเตอร์ 1 นาที จากนั้นวัดค่า pH ด้วยเครื่องวัดค่า pH จำนวน 3 ครั้งและค่าค่าเฉลี่ย

Published Online: 25 Nov 2020

การวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยเตรียมสารละลายเบียร์ที่ความเข้มข้น 5 , 10, 50, 100, 500, และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นวัดค่าความดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 200 – 800 นาโนเมตร โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงทุก 1 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrometer (Lopes, et al., 2011) เลือกใช้ความเข้มข้นที่การดูดกลืนแสงสูงสุดใกล้เคียง 1

3. การทดสอบโพลีฟีนอลรวมโดย Folin-Ciocalteau Method

เตรียมสารละลาย Sodium Carbonate ความเข้มข้น 7.5 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรในน้ำ เตรียมสารละลาย Folin ในน้ำด้วยอัตราส่วน 1: 10 และสารละลายมาตรฐาน Gallic Acid ที่ความเข้มข้น 10 – 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมสารละลาย Gallic Acid แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 500 ไมโครลิตรกับสารละลาย Folin 2500 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Sodium Carbonate ปริมาตร 2000 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยใช้น้ำปริมาณ 500 ไมโครลิตร กับ สารละลาย Folin 2500 ไมโครลิตร และ สารละลาย Sodium Carbonate 2000 ไมโครลิตร เป็น Blank นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟสมการเส้นตรงเพื่อเป็นกราฟมาตรฐานของปริมาตร Gallic Acid

เตรียมสารละลายเบียร์แต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นผสมสารละลายเบียร์แต่ละชนิดปริมาตร 500 ไมโครลิตร กับ สารละลาย Folin 2500 ไมโครลิตร และสารละลาย Sodium Carbonate 2000 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปรียบเทียบกับสมการกราฟมาตรฐาน Gallic Acid (Singleyeon, 1965)

4. การเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ด้วยวิธี DPPH

เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.06 มิลลิโมลาร์ ใน Ethanol เตรียม Ascorbic Acid ความเข้มข้น 1 – 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมสารละลาย Ascorbic Acid ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กับ สารละลาย DPPH 1 มิลลิลิตร พักไว้ในที่มืด 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้ค่าการดูดกลื่นแสงควบคุมจากผสมน้ำปริมาตร 1 มิลลิลิตร กับสารละลายปริมาตร DPPH 1 มิลลิลิตร ใช้ น้ำปริมาตร 1 มิลลิลิตรกับ Ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เป็น Blank คำนวณ ร้อยละการยับยั้ง (% inhibition) และค่า IC_{50}

เตรียมสารละลายเบียร์ ความเข้มข้น 100 - 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมสารละลายเบียร์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กับ สารละลาย DPPH ปริมาตร 1 มิลลิลิตร พักไว้ในที่มืด 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลื่นแสงทีร่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้ค่าการดูดกลื่นแสงควบคุมจากผสมน้ำปริมาตร 1 มิลลิลิตรกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใช้ น้ำปริมาตร 1 มิลลิลิตรกับ

Ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตรเป็น Blank คำนวณ ร้อยละการยับยั้ง (% inhibition) และค่า IC_{50} (Blois, 1958)

5. การเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ด้วยวิธี ABTS

เตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลลาร์ และ Potassium Persulfate ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ ผสมในอัตราส่วน 1:0.5 ทิ้งไว้ 12 – 16 ชั่วโมงในที่มืด เจือจางโดย Phosphate Buffer Solution ที่ pH 7.4 ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร มีค่าใกล้เคียง ค่า 1

เตรียม Ascorbic Acid ความเข้มข้น 10 – 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมสารละลาย Ascorbic Acid ปริมาตร 10 ไมโครลิตร กับ สารละลาย ABTS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใน หลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 6 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้ Phosphate Buffer Solution เป็น Blank และใช้สารละลาย ABTS เป็นหลอดควบคุม นำค่าที่ได้คำนวณหา ร้อยละการยับยั้ง (% inhibition) และสร้างสมการเส้นตรงมาตรฐานของ Ascorbic Acid

เตรียมสารละลายเบียร์แต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 5000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมสารละลาย Ascorbic Acid ปริมาตร 10 ไมโครลิตร กับ สารละลาย ABTS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 6 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้ Phosphate Buffer Solution เป็น Blank และใช้สารละลาย ABTS เป็นหลอดควบคุม นำค่าที่ได้คำนวณหา ร้อยละการยับยั้ง (% inhibition) เปรียบเทียบค่าที่ได้กับ Ascorbic Acid (Re, et al., 1999)

ผลวิจัย

เบียร์ในกลุ่ม Ale Beer มี ร้อยละของผลผลิต (% Yield) ที่สูงกว่า Lager Beer โดยที่ Kiss Me Deadly มี % Yield สูงที่สุดคือ 3.67% และ Happy Land มี % Yield ต่ำที่สุดคือ 2.14% สอดคล้องกับกระบวนการผลิตที่ในขั้นตอนการผลิตสุดท้ายของ Ale Beer จะไม่มีการกรองตะกอนออก (Priest and Stewart, 2006) โดยตะกอนจะประกอบไปด้วยเบียร์ที่ละลายไม่หมดเนื่องจากอุณหภูมิที่ลดต่ำลงหลังกระบวนการผลิต ดังนั้นจึงส่งผลให้ร้อยละของปริมาณสารสกัดจาก Ale Beer ได้แก่ Good Boy, Honey Bomb, และ Kiss Me Deadly มีค่าที่สูงกว่า Larger Beer คือ Happy Land

1. การทดสอบทางกายภาพของสารสกัดเบียร์

จากการทดสอบการละลายพบว่าสารสกัดเบียร์ทั้ง 4 ชนิด สามารถละลายได้ดีที่สุดในน้ำ และไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอื่นที่นำมาทดสอบ โดยที่ความสามารถในการละลาย

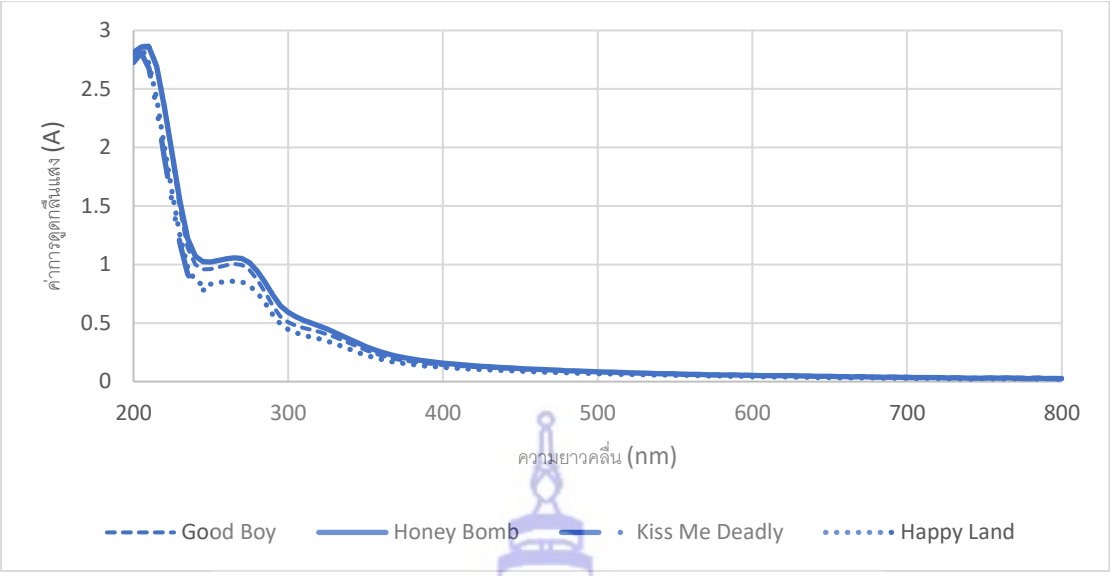
สูงสุดของเบียร์สกัด Good Boy, Happy Land, Honey Bomb, และ Kiss Me Deadly ได้ค่า 310 ± 11, 290 ± 19, 305 ± 14, และ 313 ± 11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แม้ว่าเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการละลายน้ำของเบียร์ชนิด เอลเบียร์สามารถละลายน้ำได้ในปริมาณที่มากกว่าเบียร์ชนิดลาเกอร์เบียร์ แต่เมื่อคำนวณทางสถิติด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 พบว่าค่าการละลายน้ำสูงสุดของเบียร์ทั้ง 4 ชนิด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ มีค่า p-value 0.262 จากการวัดค่า pH ของเบียร์ทั้ง 4 ชนิด พบว่าเบียร์ Good Boy มีค่า pH สูงที่สุดและ Happy Land มีค่าต่ำที่สุดใกล้เคียงกับ Kiss Me Deadly (ตารางที่ 3) การจากเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าค่า pH ของ Good Boy และ Honey Bomb มีค่าสูงกว่า Happy Land และ Kiss Me Deadly อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 0.05 ซึ่งค่า pH ของเบียร์ทั้ง 4 ชนิดอยู่ในค่าเฉลี่ยของเบียร์ทั่วไปที่ 4.00-4.50 (Priest & Stewart, 2006)

ตารางที่ 3 ค่า pH ของเบียร์แต่ละชนิด

ชนิดเบียร์	ค่า pH
Good Boy	4.45 ± 0.03^{b}
Happy Land	4.03 ± 0.03^{a}
Honey Bomb	4.39 ± 0.04^{b}
Kiss Me Deadly	4.06 ± 0.02^{a}

หมายเหตุ. ค่า p-value จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 0.05 มีค่า 0.000 สามารถแบ่งค่าได้ 2 กลุ่มคือ กลุ่ม a ได้แก่ Happy Land และ Kiss Me Deadly, และกลุ่ม b ได้แก่ Good Boy และ Kiss Me Deadly

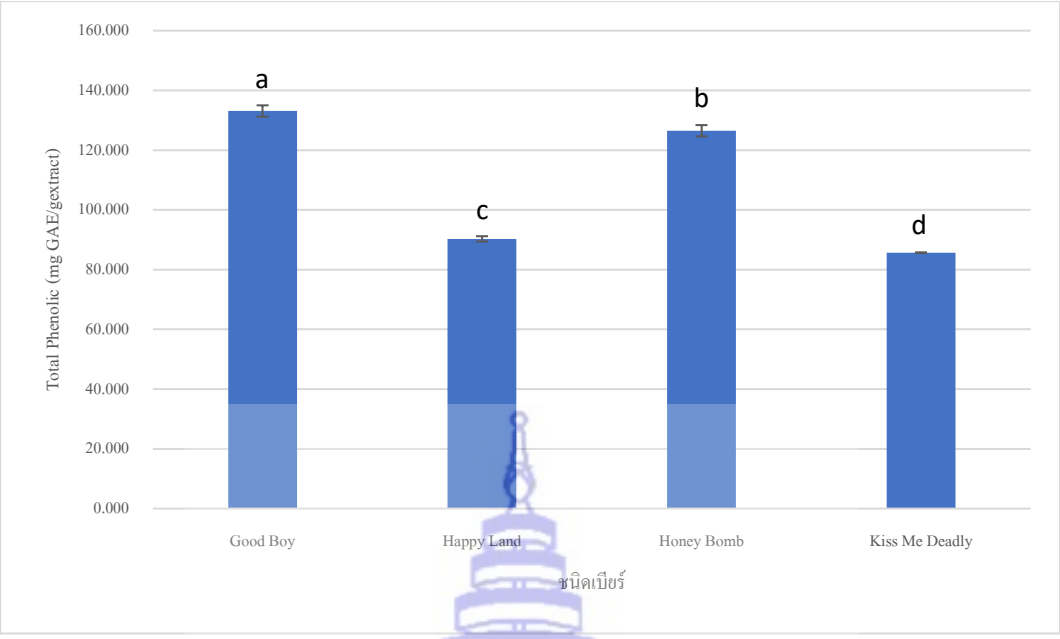
ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการวัดการดูดกลืนแสงคือ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อวัดค่าความดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 200 – 800 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrometer พบว่าเบียร์ทั้ง 4 ชนิด มีความการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 269 นาโนเมตร (ภาพที่ 1) ซึ่งมีค่าเท่ากับความยาวคลื่นของค่าดูดกลืนแสงสูงสุดของฟีนอล (Lopes, et al., 2011) ดังนั้นจึงสามารถอนุมานได้ว่าในสารสกัดเบียร์ทั้ง 4 ชนิดมีฟีนอลเป็นองค์ประกอบ ซึ่งตรงกับข้อมูลของ Ullucci และคณะ ซึ่งมีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ด้วยเครื่อง HPLC พบว่าเบียร์จากประเทศสหรัฐอเมริกามีสารประกอบในกลุ่มฟีนอล 3 อันดับแรกคือ Naringin, *p*-Coumaric Acid, และ Ferulic Acid (Ullucci, et al., 2016)



ภาพที่ 1 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของเบียร์ชนิด Good Boy, Honey Bomb, Kiss Me Ddeadly, และ Happy Land ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การทดสอบโพลีฟีนอลรวมโดย Folin-Ciocalteau Method

จากการทดลองการวัดค่าการดูดกลืนของแสงจากสารละลายมาตรฐาน Gallic Acid ที่ความเข้มข้นต่างกัน สามารถนำมาสร้างสมการเส้นตรง เมื่อนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับ Gallic Acid จะได้ค่าดังนี้ สารสกัดเบียร์ Kiss Me Deadly มีค่าเท่ากับ 85.67 ± 1.29 µg GAE/g extract สารสกัดเบียร์ Happy Land มีค่าเท่ากับ 90.30 ± 0.89 µg GAE/g extract สารสกัดเบียร์ Good Boy มีค่าเท่ากับ 133.10 ± 1.90 µg GAE/g extract สารสกัดเบียร์ Honey Bomb มีค่าเท่ากับ 126.49 ± 1.90 µg GAE/g extract (ภาพที่ 2) และเมื่อเปรียบเทียบทางสถิติด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (ANOVA) พบว่าค่าปริมาณฟีนอลิกรวมของเบียร์ทั้ง 4 ชนิดมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ค่า p-value 0.000 เมื่ออ้างอิงกับการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมของเบียร์ประเทศไทยคือเบียร์สิงห์โดยไม่ทำแห้งได้ค่า 48.98 mg GAE/L (บรรจงประเสริฐ และคณะ, 2012) และจากการศึกษาของ Zhao และคณะ (Chen, et al.,2010) ในเบียร์จากประเทศจีน, เบลเยียม, เกาหลีใต้, ฮอลแลนด์, เม็กซิโก, อเมริกา, และเยอรมันนี จำนวน 34 ชนิด พบว่าค่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วง 152.01 - 339.12 µg GAE/g extract และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับ Gallic Acid ของเบียร์ในกลุ่ม Ale Beer ทั้ง 2 ชนิด คือ Good Boy และ Honey Bomb มีค่าสูงกว่า Larger beer คือ Happy Land ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของเบียร์จากประเทศฮอลแลนด์ (Miti, et al., 2014)



หมายเหตุ. ค่า p-value จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 0.05 มีค่า 0.000 สามารถแบ่งค่าได้ 4 กลุ่มคือ กลุ่ม a ได้แก่ Good Boy, กลุ่ม b ได้แก่ Honey Bomb, กลุ่ม c ได้แก่ Happy Land, และกลุ่ม d ได้แก่ Kiss Me Deadly

ภาพที่ 2 แผนภูมิเปรียบเทียบปริมาณ Total Phenolic Content ของเบียร์ 4 ชนิดเทียบกับสารละลาย Gallic Acid

3. การเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ด้วยวิธี DPPH

จากการทดลองพบว่าค่า IC_{50} ของ Ascorbic Acid ได้ 2.74 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ค่า IC_{50} ของสารสกัดเบียร์ Kiss Me Deadly, Happy Land, Good Boy, และ Honey Bomb ได้ค่า 744.28 ± 0.90, 480.11 ± 0.14, 272.68 ± 0.48, 358.13 ± 0.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อทำการทดสอบทางสถิติพบว่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ทั้ง 4 ชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า p-value 0.000 ซึ่งจากการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระให้ผลสอดคล้องกับการทดสอบโพลีฟีนอลรวม (ตารางที่ 4) โดย Good Boy ซึ่งเป็นเบียร์ที่มีปริมานโพลีฟีนอลรวมสูงที่สุดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยที่ความสัมพันธ์ของปริมาณโพลีฟีนอลรวมมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีผลสอดคล้องกับการทดลองของ Miti และคณะ(Mitic, et al., 2014)

4. การเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ด้วยวิธี ABTS

นำค่าที่ได้มาคำนวณเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบกับ Ascorbic Acid ของสารสกัดเบียร์ 100 กรัม Good Boy, Happy Land, Honey Bomb, และ Kiss Me Deadly จะได้ค่าเทียบเท่า Ascorbic Acid 281.12 ± 0.27, 187.22 ± 0.05, 278.25 ± 0.07, และ 147.02 ± 0.25 มิลลิกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 4) โดยผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ให้ผลสอดคล้องกับวิธี DPPH

ตารางที่ 4 ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเบียร์ 4 ชนิด ด้วยวิธี DPPH และค่า ABTS

สาร	ปริมาณฟีนอลิกรวม	DPPH	ABTS
	µg GAE/g extract	IC_{50}(µg/ml)	(mg AEAC /100g extract)
Good Boy	133.10 ± 1.90 [a]	272.68 ± 0.48 [a]	281.12 ± 0.27[a]
Happy Land	90.30 ± 0.89 [c]	480.11 ± 0.14 [c]	187.22 ± 0.05[c]
Honey Bomb	126.49 ± 1.90 [b]	358.13 ± 0.38 [b]	278.25 ± 0.07[b]
Kiss Me Deadly	85.67 ± 1.29 [d]	744.28 ± 0.90 [d]	147.02 ± 0.25[d]
Ascorbic Acid	-	2.74 ± 0.00	-

หมายเหตุ. ค่า p-value จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 0.05 มีค่า ของการเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวม = 0.000, p-value การทดสอบ DPPH =0.000, และค่า p-value ของการทดสอบ ABTS = 0.000 สามารถแบ่งค่าได้ 4 กลุ่มคือ กลุ่ม a ได้แก่ Good Boy, กลุ่ม b ได้แก่ Honey Bomb, กลุ่ม c ได้แก่ Happy Land, และกลุ่ม d ได้แก่ Kiss Me Deadly

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องขององค์ประกอบของสารสกัดเบียร์ที่มีผลต่อการต่อต้านอนุมูลอิสระมีค่าที่แตกต่างกันระหว่างชนิดและแหล่งผลิตเบียร์ ในการศึกษานี้พบว่าจากการศึกษาเบียร์ที่พัฒนาสูตรและกระบวนการผลิตจากประเทศไทยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของเบียร์ โดยผลจากการการทดสอบโพลีฟีนอลรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteau และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระทั้ง 2 วิธีคือ DPPH และ ABTS สอดคล้องกันเบียร์ที่มีโพลีฟีนอลรวมและมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ Good Boy รองมาคือ Honey Bomb, Happy Land และ Kiss Me Deadly ตามลำดับ

ทั้งนี้ปริมาณสารในกลุ่มฟีนอลิกและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมีค่าที่ไม่สูงเมื่อเทียบกับสารสกัดจากธรรมชาติอื่นๆ สาเหตุอาจจะมาจากกระบวนการผลิตเบียร์ที่มีการอุณหภูมิที่สูงในขั้นตอนก่อนฆ่าเชื้อจึงอาจจะทำให้สารในกลุ่มฟีนอลิกบางส่วนเสียสภาพ อย่างไรก็ตามการใส่เบียร์เป็นวัตถุดิบในเครื่องสำอางเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าทางการตลาดของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

แนวทางในการศึกษาเพิ่มเติมสามารถทำได้ในเชิงลึกและเชิงกว้าง ในเชิงกว้างสามารถศึกษาตัวอย่างเบียร์ในประเทศไทยเพิ่มเติมให้มากขึ้น ครอบคลุมจากหลายบริษัทผู้ประกอบธุรกิจเบียร์เพื่อที่สามารถเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์แต่ละยี่ห้อในประเทศไทยด้วยวิธีทดสอบเดียวกัน ในเชิงลึกสามารถทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีโดยการใช้เครื่อง HPLC เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารในกลุ่มฟีนอลิกของเบียร์แต่ละชนิด ตลอดจนศึกษาเปรียบเทียบการประยุกต์ใช้เบียร์โดยตรงเปรียบเทียบกับการทำให้แห้ง นอกจากนี้ยังสามารถทำการศึกษาเปรียบเทียบความคงตัวของตำรับที่มีเบียร์เป็นส่วนประกอบ

รายการอ้างอิง

กัญญพัชร บรรจงประเสริฐ, พัชร์ระพี เผดิมปราชญ์ และพิชญ์วิภา ทรัพย์ศิริสวัสดิ์. (2012). *การตั้งตำรับครีมบำรุงผิวที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากเบียร์*. วิทยานิพนธ์. จุฬาลงกรมหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

Ammari, K. (2019). Batch stripping of flavour active compounds from beer: Effect of dry matter and ethanol on equilibrium and mass transfer in a packed column. *Food and Bioproducts Processing*, 306-317.

Belibagl, K. B., Belibagl B., Horuz, & Tugba, H. (2018). Nanoencapsulation by electrospinning to improve stability and water solubility of carotenoids extracted from tomato peels. *Food Chemistry*, 86-93.

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*., 181, 1199–1200.

Borbély, M., Sipos, P., Cornelia, P., & Szabó C. (2013). Analysis of total polyphenol content and colour of brewed beer samples. *Analele Universiatii din Oradea, Fascicula: Ecotoxicologie, Zootehnie Si Tehnologii de Industrie Alimentara*.

Brito, T., Fonsec, N., Aguiar, P., Monteiro, M., . . . Moura-Nunes, A. (2016). Phenolic compounds of Brazilian beers from different types and styles and application of chemometrics for modeling antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 105–113.

Chen, W., Lu, J., Zhao, M. (2010). Phenolic profiles and antioxidant activities of commercial beers. *Food Chemistry*, 1150-1158.

Coric, N., Odak, A., & Juric, Z. (2015). Analysis of total polyphenols, bitterness and haze in pale and dark lager beers produced under different mashing and boiling conditions. Wiley Online Library.

Gorjanovic, S., Novakovic, M., Potkonjak, N., Leskosek-Cukalovic, I., & Njevic, D. (2010). Application of a novel antioxidative assay in beer analysis and brewing process monitoring. *J. Agric. Food Chem.*, 744–751.

Lopes, M., Montagnolli, N., & Bidoia, D. (2011). Analytical methods in photoelectrochemical treatment of phenol. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22.

Mitic, S., Paunovic, D., Pavlovic, N., Tošic, S., . . . Miti, N. (2014). Phenolic profiles and total antioxidant capacity of marketed beers in Serbia . *International Journal of Food Properties*, 908-922.

Paiaka, P., Fortunaa, T., & Sochaa, K. (2017). Antioxidant activity and the most abundant phenolics in commercial dark beers. *International Journal of Food Properties*, 595-609.

Paul A. Ullucci, Ian N. Acworth, Marc Plante, Bruce A. Bailey, and Christopher Crafts. (2016). Gradient HPLC Method for Analysis of Beer Polyphenols, Proanthocyanidins, and Bitter Acids Using a Novel Spectro-Electro Array Platform. *Thermo Fisher Scientific*.

Priest, F.G., Stewart, G.G. (2006) Handbook of Brewing (2nd ed.).. CRC Press: Boca Raton.

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

Tubaro, F. (2009). Antioxidant activity of beer 's maillard reaction products: features and health aspects. *Beer in Health and Disease Prevention*, 449-457.