สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานวิจัยประจำปีงบประมาณ 2548

เรื่อง

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสีในระหว่างการบ่มไวน์ผลไม้

CHANGE IN TOTAL POLYPHENOL CONTENT AND COLOR OF FRUIT WINES DURING AGING

ผู้วิจัย

นางสาวสร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา

นายพัสกร เจียตระกูล

RC14
TP
561
ส346ร

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....75519
วัน,เดือน,ปี.....6 พ.ย. 2550

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

รายงานผลการวิจัยที่ได้รับทุนสนับสนุนจากคณะอุตสาหกรรมเกษตร

ประจำปีงบประมาณ 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

b. 11825383
i.

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสีในระหว่างการบ่มไวน์ผลไม้

CHANGE IN TOTAL POLYPHENOL CONTENT AND COLOR OF FRUIT WINES DURING AGING

สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา และพัสกร เจียตระกูล

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดรวมทั้งองค์ประกอบทางกายภาพและเคมีในระหว่างการหมักและบ่มไวน์ผลไม้ ได้แก่ ไวน์สับปะรด ไวน์มะขาม ไวน์องุ่นและไวน์กระเจี๊ยบ พบว่าระยะสุดท้ายของการหมัก ในไวน์สับปะรด มะขาม องุ่นและกระเจี๊ยบมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 7.80, 9.75, 8.35 และ 10.3 องศาบริกซ์ ปริมาณแอลกอฮอล์มีค่าเท่ากับ 12.70, 11.05, 11.17 และ 10.74 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปริมาณกรดทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 0.98, 0.79, 0.65 และ 0.79 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และพีเอชมีค่าเท่ากับ 3.21, 3.34, 3.76 และ 3.62 ตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและแอนโธไซยานินมีแนวโน้มลดลงในระหว่างการบ่มไวน์ผลไม้ เมื่อสิ้นสุดการบ่มปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในไวน์สับปะรด มะขาม องุ่นและกระเจี๊ยบมีค่าเท่ากับ 196, 285, 502 และ 681 mg GAE/L ตามลำดับ ในขณะที่ไวน์องุ่นและไวน์กระเจี๊ยบมีสารแอนโธไซยานินเท่ากับ 9.95 และ 11.28 mg C3GE/L ตามลำดับ ในระหว่างการบ่มไวน์องุ่นและไวน์กระเจี๊ยบ พบการลดลงของดัชนีสารสีน้ำตาลและสารสีแดง เมื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 และ 520 นาโนเมตรตามลำดับ โดยไวน์กระเจี๊ยบมีค่าการดูดแสงของดัชนีสารมีสีทั้งสองมากกว่าในไวน์องุ่น

ABSTRACT

The changes in total polyphenol content and physicochemical properties during fermentation and aging, were evaluated in four fruit wines; pineapple, tamarind, grape and rosella wine. At final stage of fermentation, pineapple, tamarind, grape and rosella wines comprised total soluble solid (7.80, 9.75, 8.35 and 10.3 °Brix), alcohol (12.70, 11.05, 11.17 and 10.7 %v/v), total acidity (0.98, 0.79, 0.65 and 0.79 %w/v) and pH (3.21, 3.34, 3.76 and 3.62), respectively. During aging of all wines, the declination in total polyphenol and anthocyanin contents were observed. At the final stage of aging, total polyphenol content in pineapple, tamarind, grape and rosella wines was 196, 285, 502 and 681 mg GAE/L respectively. Anthocyanin content was found in grape and rosella wines with 9.95 and 11.28 mg C3GE/L, respectively. During aging, the decrease in browning index and red color in grape and rosella wines were observed at 420 and 520 nm respectively. In addition, rosella wine showed highest browning index and red color.

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังเป็นอย่างสูง ที่สนับสนุนงบประมาณในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ รวมถึงการให้ความอนุเคราะห์ให้ใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ และสถานที่ประกอบการศึกาวิจัย

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมายังผู้ที่มีส่วนร่วมในการวิจัยทุกท่าน โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ให้ความร่วมมือในการทดลองเป็นอย่างดี

คณะผู้วิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	ง
บทที่ 1	1
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	
บทที่ 2	2
วารสารปริทัศน์	2
2.1 องค์ประกอบของไวน์	2
2.2 ไวน์แดงกับสุขภาพ	3
2.3 สารประกอบฟีนอล	4
2.4 ผลของสารประกอบฟีนอลที่มีต่อรสชาติของไวน์	5
2.5 แอนโธไซยานิน	
บทที่ 3	8
วัตถุดิบ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	8
3.1 วัตถุดิบ	8
3.2 สารเคมี	8
3.3 อุปกรณ์	8
3.4 วิธีดำเนินการทดลอง	8
บทที่ 4	
ผลการทดลอง	11
4.1 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีในระหว่างการหมักไวน์ผลไม้	11
4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในระหว่างการบ่มไวน์ผลไม้	11
4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารแอนโธไซยานินทั้งหมดในระหว่างการบ่มไวน์ผลไม้	12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มของสีน้ำตาลและสีแดง ในระหว่างการบ่มไวน์ผลไม้ 13

4.5 ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด สารแอนโธไซยานินทั้งหมด และค่าความเข้มของสีแดงในไวน์แดง 14

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 15

เอกสารอ้างอิง 17

ภาคผนวก 19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่

1 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างสารแอนโธไซยานินทั้งหมดกับสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และสารแอนโธไซยานินทั้งหมดกับค่าความเข้มของสีแดงในไวน์แดงหลังสิ้นสุดการบ่มไวน์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 14

สารบัญภาพ

ภาพที่

1 พีทูนิดิน(petunidin) 7

2 มาลวิดิน(malvidin) 7

3 ไซยานิดิน(cyanidin) 7

4 ฟีลาร์โกนิดิน(pelargonidin) 7

5 เดลฟีนิดิน(delphinidin) 7

6 พีโอนิดิน(peonidin) 7

7(a) การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลาย และ แอลกอฮอล์ระหว่างการหมักไวน์สับปะรด มะขาม องุ่น และกระเจี๊ยบ 11

7(b) การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด และ ค่าพีเอชระหว่างการหมักไวน์สับปะรด มะขาม องุ่น และกระเจี๊ยบ 11

8 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสารแอนโธไซยานินทั้งหมดในไวน์ผลไม้หลังสิ้นสุดการหมัก 12

9(a) การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดระหว่างการบ่มไวน์สับปะรด มะขาม องุ่น และกระเจี๊ยบ 13

9(b) การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารแอนโธไซยานินทั้งหมดระหว่างการบ่มไวน์สับปะรด มะขาม องุ่น และกระเจี๊ยบ 13

10 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 และ 520 nm ในไวน์สับประรด มะขาม องุ่น และกระเจี๊ยบ ระหว่างการบ่มเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 14

11 ไวน์ 4 ชนิดหลังสิ้นสุดการบ่ม 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

ไวน์เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งที่จัดว่าเป็นเครื่องดื่มสุขภาพ (healthful beverage) โดยทั่วไปแล้วไวน์จะหมายถึงเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่เกิดจากการหมักน้ำองุ่นเท่านั้น หากผลิตจากผลไม้อื่นจะมีชื่อเรียกต่างกันไป โดยทั่วไปเรียกตามชื่อผลไม้ที่นำมาหมัก เช่น ไวน์สับปะรด ไวน์มะขาม ไวน์กระเจี๊ยบ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีไวน์ที่ทำจากแอปเปิ้ล เรียกว่า ไซเดอร์ (cider) หากทำจากน้ำผึ้ง เรียกว่า หมีด (mead) และไวน์ที่ทำจากลูกสาลี่ เรียกว่า เพอรี่ (perry)

ในไวน์มีสารต่างๆ เป็นองค์ประกอบมากกว่า 650 ชนิด สารประกอบโพลีฟีนอล จัดเป็นสารชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อไวน์ โดยจะมีผลต่อสีของไวน์แดงและคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสโดยจะให้รสขม และความฝาดเฝื่อน (Zoecklein et al., 1995) นอกจากนี้ยังเป็นสารตั้งต้นของการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากออกซิเจนในไวน์ แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสารดังกล่าวมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระ (antiradicals) นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการช่วยป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (Alfred, 2000)

สารแอนโธไซยานินเป็นอีกสารหนึ่งที่มีความสำคัญในไวน์ สารชนิดนี้จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) พบได้ในผัก ผลไม้ และดอกไม้บางชนิด เช่น กระเพรา โหรพา ใบแมงลัก แครนเบอรี่ องุ่น พลัม บลูเบอรี่ หว้า ดอกอัญชัน กลีบดอกกระเจี๊ยบแดง และผักผลไม้อื่นๆ ที่มีสีม่วงแดง (Phippen and Simon, 1998) มีการรายงานว่าไวน์แดงที่หมักเสร็จใหม่ๆ (young red wine) จะมีปริมาณสารแอนโธไซยานินอยู่สูงจึงทำให้ไวน์มีสีม่วงเข้ม และมีรสฝาดเฝื่อนอยู่มากอันเนื่องมาจากสารประกอบโพลีฟีนอล เมื่อไวน์ผ่านการบ่มสารเหล่านี้จะมีปริมาณน้อยลงจึงได้ไวน์ที่มีรสชาติกลมกล่อมมากยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์

งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาถึงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด รวมทั้งสารแอนโธไซยานิน และสีในระหว่างการบ่มไวน์ผลไม้ 4 ชนิด ได้แก่ ไวน์สับปะรด ไวน์มะขาม ไวน์องุ่น และไวน์กระเจี๊ยบ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการอธิบายถึงความสัมพันธ์ระหว่างสารทั้ง 3 ชนิดนี้ รวมทั้งเป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่ออธิบายถึงการเปลี่ยนแปลงรสชาติของไวน์หลังผ่านการบ่มต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 องค์ประกอบของไวน์ (สืบศักดิ์, 2534)

กลิ่นและรสชาติของไวน์ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของไวน์ เช่น ความหวาน รสเปรี้ยว รสเค็ม รสขมและฝาด โดยรสหวานนั้นมาจากน้ำตาลที่เหลือจากการหมัก รสเปรี้ยวจากกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก กรดซิตริก กรดซักซินิก หรือกรดแลกติก โดยมีค่าพีเอช ประมาณ 2.9-3.9 รสเค็มจากเกลือกรดแร่และกรดอินทรีย์ ในไวน์มี K^+ (โปแตสเซียมอิออน) มากที่สุด รองลงมาเป็น Na^+(โซเดียมอิออน), Mg^{++} (แมกนีเซียมอิออน) และ Ca^{++} (แคลเซียมอิออน) รสขมและฝาดจากสารประกอบฟีนอลและแอนโธไซยานิน (ทำให้รสชาติของไวน์แดงและไวน์ขาวแตกต่างกัน) และ
แทนนินซึ่งมีในเปลือก เมล็ด และก้านองุ่น ในไวน์มีสารระเหยง่ายหลายร้อยชนิด เช่น กรด เอสเทอร์ และสารประกอบคาร์บอนิล

2.2 ไวน์แดงกับสุขภาพ (กมลศักดิ์, 2546 ; นพพร, 2539 ; Alfred, 2000 ; Roberto *et al.*, 200l และ Sanchez *et al.*, 2003)

2.2.1. ไวน์แดงกับโรคหัวใจ จากข้อมูลของ Alfer (2000) ยืนยันว่า การดื่มไวน์วันละ 1-2 แก้ว จะช่วยทำให้สุขภาพดีขึ้น โดยในไวน์แดงทุกชนิดมีสารที่เรียกว่า แทนนิน ซึ่งมีอยู่ในเปลือกองุ่นดำที่นำมาหมักไวน์แดง เป็นตัวส่งเสริมให้เลือดในร่างกายมนุษย์มี High Density Lipoprotiens หรือ HDL ซึ่งเป็นหลอดเลือดที่มีประโยชน์ไปช่วยละลายไขมันหรือชะล้างการเกาะของไขมันที่ไม่มีประโยชน์ซึ่งเกาะอยู่ที่ผิวด้านในของหลอดเลือด จึงทำให้เส้นเลือดไม่อุดตันจนเป็นสาเหตุให้เกิดอาการหัวใจวาย (Heart Attract) นอกจากนี้แทนนินยังช่วยส่งเสริมให้เส้นเลือดฝอยไม่เปราะบางจนแตกได้ง่าย ผู้ที่ดื่มไวน์เป็นประจำวันวันละครึ่งลิตรจะส่งผลดีต่อสุขภาพหลายประการ คือ ประการที่หนึ่งทั้งไวน์แดงและไวน์ขาวจะมีสาร Reveratrol ซึ่งช่วยลดคลอเลสเตอรอลในเส้นเลือดเพราะสารนี้จะไปช่วยให้ออกซิเจนในร่างกายไม่เสีย และไปเพิ่มความแข็งแรงของหลอดเลือดทำให้ไม่เปราะบาง (Roberto *et .al.*, 2001) โดยในไวน์แดงจะมีสาร Reveratrol มากกว่าในไวน์ขาว กระบวนการผลิตก็มีผลต่อปริมาณสารนี้ ประการที่สอง ไวน์แดงมีสาร Oentannins ช่วยบำรุงเส้นเลือดและป้องกันเส้นเลือดแข็งตีบตัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2. ไวน์กับระบบย่อยอาหาร ทั้งไวน์ขาวและไวน์แดงมีธาตุโปแตสเซียมที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ทำให้ระบบการทำงานของทางเดินอาหารดี ป้องกันท้องผูก และท้องเสีย โดยเฉพาะในไวน์ขาวจะมีประโยชน์ในส่วนนี้มากกว่าไวน์แดง ทั้งยังฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่เป็นโทษต่อร่างกาย

2.2.3. ไวน์กับวิตามิน ไวน์แดงให้ธาตุและสารอาหารแก่ร่างกายทุกชนิด โดยเฉพาะในไวน์แดงจากฝรั่งเศส

2.2.4. ระบบประสาท (nervous system) ในสมองซึ่งได้รับผลกระทบจากเกิด oxidation ทำให้ได้รับความเสียหาย สาร peroxynitrite ทำปฏิกิริยา nitration กับกรดอะมิโน tyrosine โดยเอนไซม์ และโปรตีนที่เชื่อว่าเป็นสาเหตุหลักของโรคเส้นประสาทในสมองเสื่อม ซึ่งกรดอะมิโน tyrosine ที่ถูก nitrated แล้วไป block กับ nerve growth-factor receptor site สาร anthocyanin จะป้องกันการเกิด tyrosine nitration

2.2.5. ไวน์กับโรคมะเร็ง การดื่มไวน์เป็นประจำสม่ำเสมอสามารถช่วยป้องกันโรคมะเร็งที่ปากและลำคอได้ เพราะไวน์แดงมีกรดแกลลิก (Gallic acid) ที่ป้องกันมะเร็งในช่องปาก จากสถิติของผู้ที่ดื่มไวน์เป็นประจำ จะไม่พบผู้ป่วยเป็นโรคมะเร็งที่ลำคอและช่องปาก

2.2.6. โรคเบาหวาน (diabetes) ความเสียหายของ microvessel จากการที่ระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็นสาเหตุแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน การที่โปรตีน collagen กลายมาเชื่อมกับน้ำตาลเป็นผลมาจากความผิดปกติของ polymeric blood vessel collagen ในประเทศเยอรมันมีการทดสอบให้ผู้ป่วยโรคเบาหวาน 12 คน รับประทานสารแอนโธไซยานิน 600 mg ทุกวันเป็นเวลา 2 เดือน เมื่อนำเนื้อเยื่อมาตรวจพบว่าสามารถลดความผิดปกติของ collagen

2.2.7. สายตา (eyesight) สารแอนโธไซยานินช่วยบำรุงสายตา ในประเทศฝรั่งเศส มีการทดสอบใน 36 คน รับประทานสารแอนโธไซยานินที่สกัดจากลูกบูลเบอรี่ พบว่าภายในช่วง 24 ชั่วโมงหลังทานสารนี้เข้าไป สายตาสามารถทำการมองเห็นในเวลากลางคืนได้ดีขึ้น

2.3 สารประกอบฟีนอล (phenolic compound) หรือฟีนอล (phenol) ที่มีความสำคัญในไวน์ (นพพร, 2539 ; ภัทราภรณ์, 2542)

สารประกอบฟีนอลและแอนโธไซยานินมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ทำงานเหมือนเกาะกำบังเซลล์และส่วนประกอบของเซลล์เหล่านั้นจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระสุนปืน โดยการเอาตัวเองเป็นโล่กำบัง ที่ทำให้เซลล์ในร่างกายทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ยังมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับการป้องกันการเป็นโรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคมะเร็ง ลดการอักเสบของแผล ลดริ้วรอยบนผิวหนังทำให้ผิวพรรณผ่องใส ผมดกดำเงา รวมทั้งช่วยให้เซลล์ประสาทในสมองทำงานได้มีประสิทธิภาพทำให้ความจำดีขึ้น นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุของความแก่และก่อให้เกิดโรคมะเร็ง ในปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระได้ถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องสำอางซึ่งได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายทั้งในและต่างประเทศ สารต้านอนุมูลอิสระมีอยู่หลายชนิดด้วยกันและแต่ละชนิดก็มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดกันไป

สารประกอบฟีนอล (phenolic compound) เป็นสารประกอบที่มีอยู่ในไวน์ ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ และมีอยู่มากมายหลายประเภทสารประกอบในกลุ่มนี้มีหลายชนิดสารประกอบฟีนอลแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

ก. สารฟลาโวนอยด์ฟีนอล (Flavonoid phenols) ประกอบด้วย Flavan-3-ol เช่น catechin, epicatechin, Procyanidin, Flavols เช่น Myricetin, Quercetin และ Anthocyanin

ข. สารฟีนอลที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์ (Non-Flavonoid phenols) ประกอบด้วย Hydroxybenzoic acid, Hydroxycinnamic acid เช่น p-coumaric acid, caffeic acid, ferulic acid และ monocaffeoyl tartaric acid (caftaric acid) เป็นต้น ซึ่งมาจากผลไม้โดยเฉพาะไวน์แดง เปลือกของผลองุ่นที่ถูกนำมาทำไวน์แดงนั้น ประกอบไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบนี้มีการเปลี่ยนแปลงได้ในระหว่างกระบวนการหมักไวน์หรือบ่มไวน์ สารประกอบ ฟีนอลทั้งหมดที่สกัดได้จากผลไม้จะแสดงในรูปของกรดแกลลิก (gallic acid) โดยปริมาณฟีนอลทั้งหมดในไวน์จะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ขององุ่น สภาวะการปลูก วิธีการหมัก สภาวะในการหมักไวน์ และการบ่มไวน์

สารประกอบฟีนอลในไวน์เป็นสารตั้งต้นของการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากออกซิเจนในไวน์ นอกจากนี้ยังมีผลต่อสีและคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสโดยมีรงควัตถุที่สำคัญทีมีผลต่อสีและคุณลักษณะสัมผัสของไวน์คือ แอนโธไซยานิน

2.4 ผลของสารประกอบฟีนอลที่มีต่อรสชาติของไวน์

ด้านรสชาติของสารประกอบฟีนอลของไวน์เป็นสารที่ให้รสขมและฝาดที่สำคัญ โดยรสขมเป็นความรู้สึกทางประสาทสัมผัสที่ได้รับจากด้านในสุดของลิ้น ขณะที่รสฝาดเป็นความรู้สึกปากแห้งที่เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลกับสารโปรตีนในปาก (Singleton and Easu, 1969) Somer (1972) ได้อธิบายถึงความรู้สึกฝาดของไวน์แดงที่ผ่านกระบวนการหมักใหม่ ๆ ว่าเกิดจากการรวมตัวของสารไกลโคโปรตีนที่อยู่ในน้ำลายในปากกับสารแทนนินของไวน์ แล้วเกิดการตกตะกอน ทำให้ความสามารถในการเป็นสารหล่อลื่นของน้ำลายลดลงเปลี่ยนเป็นความรู้สึกฝาดขึ้น สารประกอบฟีนอลพวกโมโนเมอริก (monomeric) และอนุพันธ์ของแอนโธไซยานินและคาทิซินมีน้ำหนักโมเลกุลเพียง 500-700 ขนาดโมเลกุลเล็กจนเกินไปที่จะรวมตัวกับโปรตีนจึงไม่มีคุณสมบัติก่อให้เกิดความรู้สึกฝาดได้ เมื่อเปรียบเทียบขนาดและน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลและความสัมพันธ์กับรสขมและความฝาดของๆไวน์ ยิ่งสารประกอบฟีนอลมีน้ำหนักโมเลกุลสูง เช่น ไดเมอริก (dimeric) ไตรเมอริก (trimerics) เตตราเมอริก (tetramerics) และโพลีเมอริกของแอนโธไซยานินจะให้รสขมและฝาดเพิ่มมากขึ้นตามลำดับ

ปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้ในไวน์จะมีผลต่อลักษณะของสีและรสชาติของไวน์แดงอย่างมาก เม็ดสีแดงเป็นสารแอนโธไซยานิน จัดอยู่ในสารพวกฟลาโวนอยด์ซึ่งละลายอยู่ใน แวคคิวโอลของเซลล์ในส่วนผลขององุ่น (Harbone, 1987) Bakker and Timberlake (1986) กล่าวว่า การหมักไวน์แดงทั้งเปลือก เนื้อ และน้ำ ในช่วงแรกจะมีการเพิ่มขึ้นของเม็ดสีและแอนโธไซยานินทั้งหมดอย่างรวดเร็ว แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาหลัง 3 วันขึ้นไป ปริมาณการเพิ่มของเม็ดสีและแอนโธไซยานินทั้งหมดจะช้าลง

2.5 แอนโธไซยานิน (นพพร, 2539 ; ภัทราภรณ์ , 2542)

คำว่าแอนโธไซยานินมาจากภาษากรีก ซึ่ง anthos หมายถึงดอกไม้ และ kyanos หมายถึงสีน้ำเงิน แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของ Flavonoid ซึ่งจะพบอยู่ใน cell sap ของพืช อยู่ในรูปของ Glycoside ให้สีแดง น้ำเงิน และม่วง ในผัก ผลไม้ และดอกไม้ โมเลกุลของแอนโทไซยานินประกอบด้วยส่วนที่เป็นน้ำตาลและส่วนที่เป็น Agrycone เรียกว่า Anthocyanidin ซึ่งแยกออกจากกันได้โดยการไฮโดรไลซิสด้วยกรด ในเนื้อเยื่อพืชจะไม่พบ Agrycone อยู่ในรูปอิสระ จะพบเฉพาะที่อยู่ในรูป Glycoside คือ รวมกับน้ำตาลเป็นเอสเทอร์เท่านั้น ซึ่งมีสูตรโครงสร้างหลักทางเคมีเป็นฟลาวิลเลียมแคทไอออน (flavylium cation) หรือไซยานิดิน (cyanidin) โดยเป็นอนุพันธุ์ polyhydroxy และ polymethoxy ของฟลาวิลเลี่ยม หรือ 2-phenyl benzopyrulium อนุพันธ์อื่นของแอนโธไซยานินเกิดจากการเปลี่ยนแปลงจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxygroups) หรือโดยการเกิดเมทิลเลชั่น (methylation) หรือไกลโคเลชั่น (glycolation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบแอนโธไซยานินทำให้ส่วนประกอบต่างๆ ของพืชที่มีสารชนิดนี้อยู่มีสีสัน สีที่เกิดขึ้นในดอกหรือผลนั้น เชื่อว่าจะมีส่วนช่วยให้เกิดการถ่ายละอองเกสรและการแพร่กระจายของเมล็ดพืชโดยสัตว์ สำหรับในใบการที่ใบมีแอนโทไซยานินก็เปรียบเสมือนเป็นแผ่นกันแสงที่ช่วยลดอันตรายจากแสงอุลตร้าไวโอเลต นอกจากนี้แล้วยังพบว่าในพืชบางชนิดได้แก่ กะหล่ำปลี ดอกทานตะวัน เมล็ดถั่ว และข้าวโพด แอนโทไซยานินมีส่วนช่วยในการป้องกันพยาธิและสิ่งมีชีวิตที่ทำให้เกิดโรคต่างๆได้ แอนโธไซยานินสามารถละลายน้ำได้ แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายประเภท non-hydroxyl เช่น อะซิโตน (acetone) เบนซีน (benzene) คลอโรฟอร์ม (chloroform) และอีเทอร์ (ether) เป็นต้น ส่วนใหญ่มีสีชมพู แดง ม่วง ม่วงแดง และสีน้ำเงิน พบได้ทั่วไปในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบ ผล กลีบ และลำต้น สีของแอนโธไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่าง สภาวะที่เป็นกรด (pH<3) สีที่แสดงออกคือสีแดง สภาวะที่เป็นกลาง (pH=7-8) สีที่แสดงออกคือสีม่วง สภาวะที่เป็นเบส (pH>13) สีที่แสดงออกคือสีน้ำเงิน

การเปลี่ยนรูปของแอนโธไซยานินในการให้สีอันเนื่องจากพีเอช ในสารละลายพีเอช 3.0 แอนโธไซยานินจะอยู่ในรูปของคาร์บอเนียมอิออนและมีสีแดง แต่ที่พีเอช 4.0 แอนโธไซยานินจะเปลี่ยนอยู่ในรูปของซูโดเบส ซึ่งไม่มีสี และเมื่อพีเอชใกล้เป็นกลาง แอนโธไซยานินจะเปลี่ยนมาอยู่ในรูปแอนไฮโดรเบส (anhydro base) ซึ่งมีสีม่วงน้ำเงิน และจากการคุณสมบัติการเปลี่ยนแปลงรูปของแอรโธไซยานินนี้ Somer (1972) ได้อธิบายเพิ่มเติมถึงปริมาณของรูปแอนโธไซยานินที่มีในสารละลายต่างๆ ดังนี้ ปกติไวน์ คือพีเอช 3.2 แอนโธไซยานินในรูปที่มีสีจะมีอยู่ร้อยละ 20

โมเลกุลของแอนโธไซยานินประกอบด้วยแอนโธไซยานินที่เรียกว่า agylcone จับตัวกับน้ำตาลเรียกว่า glycone ด้วยพันธะ glycoside น้ำตาลที่จับกับแอนโธไซยานินอาจเป็น monosacharide ได้แก่ กลูโคส รามโนส (rhamnose) กาแลคโตส (galactose) ไซโลส (xylose) หรืออะราบิโนส(arabinose) หรือพวก disaccharide หรือ trisaccharide โมเลกุลน้ำตาลถูก esterified ที่ตำแหน่งคาร์บอนที่สามด้วยกรดอินทรีย์บางชนิด เช่น ρ-coumaric, caffeic และ ferulic ซึ่งจะช่วยให้แอนโธไซยานินมีเสถียรภาพดีขึ้น (Timberlake and Bridle, 1980) แอนโธไซยานินเป็นสารประกอบพวกไกลโคไซด์ (glycoside) เมื่อถูกย่อยสลายด้วยกรด (acid hydrolysis) จะให้น้ำตาล (glycone) และส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล (aglycone) หรือแอนโธไซยานิน โดยทั่วไปแอนโธไซยานินที่พบในพืชมีอยู่ด้วยกัน 6 ชนิด ได้แก่ ไซยานิน (cyanidin) พีลาร์โกนิดิน (pelargonidin) เดลฟินิดิน (delphinidin) พีโอนิดิน (peonidin) พีทูนิดิน (peotunidin) และมาลวิดิน (malvidin)

ไซยานิดินมีสีม่วง พีลาร์โกนิดินมีสีแดงส้ม และในสูตรโครงสร้างมีหมู่ไฮดรอกซิลน้อยกว่าไซยานิดินหนึ่งหมู่ เดลฟินิดินจะมีสีม่วงแดง ม่วงคราม และสีน้ำเงิน ซึ่งโครงสร้างจะมีหมู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

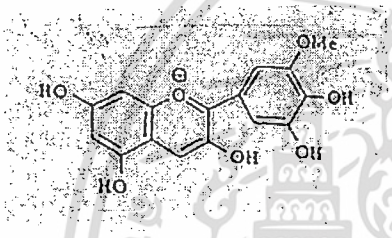
ไฮดรอกซิลมากกว่าไซยานิดินหนึ่งหมู่ ส่วนแอนโธไซยานิดินที่เหลืออีก 3 ชนิด นั้นเป็นอนุพันธุ์ของเมทิลอีเทอร์ (methyl ether derivatives) ของไซยานิดิน แอนโธไซยานินทั้ง 6 ชนิด จะมีน้ำตาลเกาะอยู่ในลักษณะต่าง ๆ กันทำให้มีแอนโธไซยานินชนิดต่าง ๆ เกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก โดยมีความแตกต่างของน้ำตาลที่เกาะอยู่ ปัจจัยที่จะทำให้แอนโธไซยานินมีความแตกต่างกัน คือ

ก. ชนิดของน้ำตาล ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลกลูโคส แต่อาจพบแรมโนส กาแลคโตส หรือราบิโนสได้

ข. ตำแหน่งที่น้ำตาลเกาะอยู่โดยทั่วไปจะอยู่ที่ตำแหน่งที่ 3-hydroxyl หรือที่ 3, 5 hydroxyls

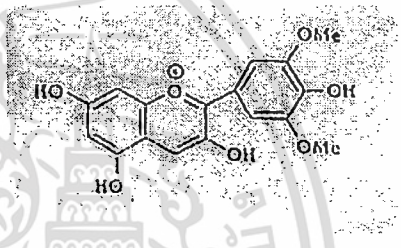
จำนวนโมเลกุลของน้ำตาลอาจมี 1 โมเลกุล เรียกว่า monoglycoside 2 โมเลกุลเรียกว่า diglycoside หรือ 3 โมเลกุลเรียกว่า triglycoside

สูตรโครงสร้างองค์ประกอบย่อยของแอนโธไซยานิน



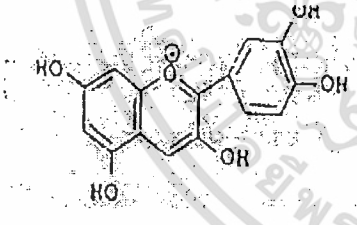
ภาพที่ 1 พีทูนิดิน(petunidin)

ที่มา : (Phippen,1998)



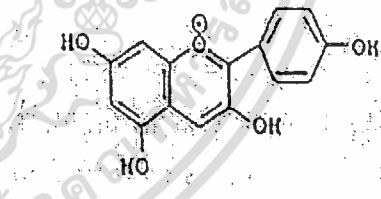
ภาพที่ 2 มาลวิดิน(malvidin)

ที่มา : (Phippen,1998)



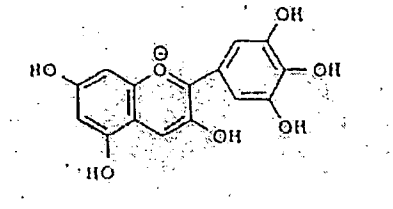
ภาพที่ 3 ไซยานิดิน(cyanidin)

ที่มา : (Phippen,1998)



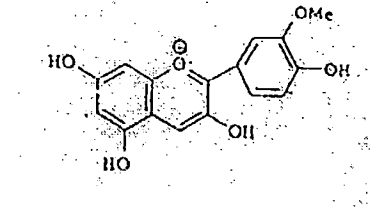
ภาพที่ 4 ฟีลาร์โกนิดิน(pelargonidin)

ที่มา : (Phippen,1998)



ภาพที่ 5 เดลฟีนิดิน(delphinidin)

ที่มา : (Phippen,1998)



ภาพที่ 6 พีโอนิดิน(peonidin)

ที่มา : (Phippen,1998)

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วัตถุดิบ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1. วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

กระเจี๊ยบ องุ่น มะขาม และสับปะรด

น้ำตาลทราย

3.1.2 สารเคมี

- เอธิลแอลกอฮอล์ 70% และ 95%
- ฟีนอล์ฟทาลีน 1%
- แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$)
- ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 N (0.1 N NaOH)
- กรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4)
- โปแตสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$)
- เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)
- *o*- Phenanthroline. H_2O
- แอมโมเนียมเฟอรัสซัลเฟต ($Fe(NH_4)_2(SO_4).6H_2O$)

3.1.3 อุปกรณ์

- เครื่องวัดความเข้มของแสง
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
- เครื่องผสมแบบ vortex mixer
- เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ชนิด Hand refractometer 0-32 องศาบริกซ์
- เครื่องวัดพีเอช
- ชุดวิเคราะห์แอลกอฮอล์

3.2. วิธีดำเนินการทดลอง

3.2.1 การเตรียมเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อยีสต์เตรียมโดยเขี่ยเชื้อ *S. cerevisiae* จากอาหารวุ้นเอียง 1 loop ลงไปเลี้ยงในอาหาร Yeast Malt extract Broth (YM broth) เขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2.2 การเตรียมน้ำผลไม้ การหมักและการบ่มไวน์

การเตรียมน้ำกระเจี๊ยบ องุ่น มะขาม และสับปะรดเตรียมโดยเติมน้ำกรองในสัดส่วนผลไม้ต่อน้ำเท่ากับ 1:60, 1:1, 1:15 และ 2:1 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ เติมน้ำตาลทรายเพื่อปรับให้น้ำผลไม้ทุกชนิดมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเป็น 23 องศาบริกซ์ และปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 4.0 โดยการเติมกรดซิตริก เติมสารอาหารไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.05% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำไปต้มให้เดือด จากนั้นใช้ผ้าขาวบางกรองเพื่อแยกกาก บรรจุใส่ภาชนะหมัก ปล่อยให้น้ำผลไม้เย็นจึงนำมาเติมกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* อายุ 24 ชั่วโมง ปริมาณ 5% โดยปริมาตร นำไปหมักที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นนำไวน์ผลไม้ไปกรองเอาเฉพาะส่วนใส และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน

3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดใช้วิธีที่รายงานโดย Zoecklein et al. (1995) โดยอาศัยหลักการที่ว่าสารประกอบโพลีฟีนอลจะทำปฏิกิริยากับสาร Folin-Ciocalteu ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินซึ่งดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ใช้กรดแกลลิกเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลมาตรฐาน

ปิเปตตัวอย่างไวน์ผลไม้จากข้อ 2.2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร และเติมสาร Folin-Ciocalteu ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 20% ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรสารให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ตั้งไว้ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตรแทนตัวอย่างไวน์ผลไม้เป็น blank

3.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโธไซยานินทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดใช้วิธีที่ดัดแปลงจากวิธีที่รายงานโดย Sánchez-Moreno et al. (2003) โดยเตรียมตัวอย่างไวน์ผลไม้ให้มีค่าพีเอช 1.0 และ 4.5 จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 และ 700 นาโนเมตร โดยใช้สาร cyanidin-3-glucoside เป็นสารแอนโธไซยานินมาตรฐาน

ปิเปตตัวอย่างไวน์ผลไม้จากข้อ 2.2 นำมาเจือจางด้วยสารละลายพีเอช 1.0 buffer ในอัตราส่วน 1:10 และนำตัวอย่างไวน์ผลไม้ชนิดเดียวกันนี้มาเจือจางด้วยสารละลายพีเอช 4.5 buffer ในอัตราส่วน 1:10 เช่นเดียวกัน จากนั้นเก็บสารเก็บสารละลายตัวอย่างทั้งสองไว้ในที่มืดนาน 2 ชั่วโมง แล้วจึงนำไป

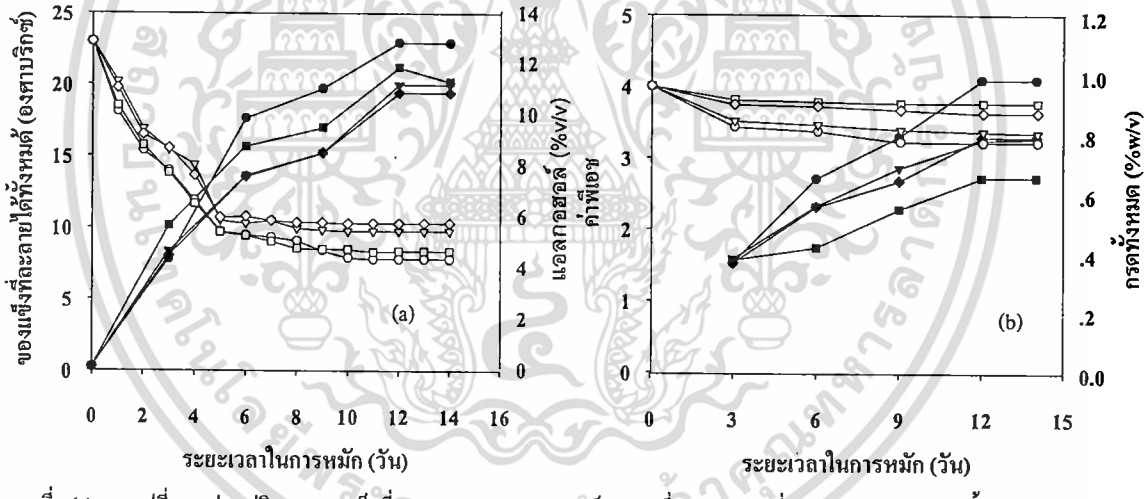
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1. การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีในระหว่างการหมักไวน์ผลไม้

ในระหว่างการหมักไวน์ผลไม้พบว่า ไวน์ผลไม้ทุกชนิดมีแนวโน้มของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลง ในขณะที่ปริมาณแอลกอฮอล์มีค่าเพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณกรดทั้งหมดในไวน์ผลไม้พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับค่าพีเอชในระหว่างการหมักซึ่งมีค่าลดต่ำลง เมื่อสิ้นสุดการหมักในไวน์สับปะรด มะขาม องุ่นและกระเจี๊ยบมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 7.80, 9.75, 8.35 และ 10.3 องศาบริกซ์ ปริมาณแอลกอฮอล์มีค่าเท่ากับ 12.70, 11.05, 11.17 และ 10.74 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปริมาณกรดทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 0.98, 0.79, 0.65 และ 0.79 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และพีเอชมีค่าเท่ากับ 3.21, 3.34, 3.76 และ 3.62 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 7 (a) และ 7 (b)



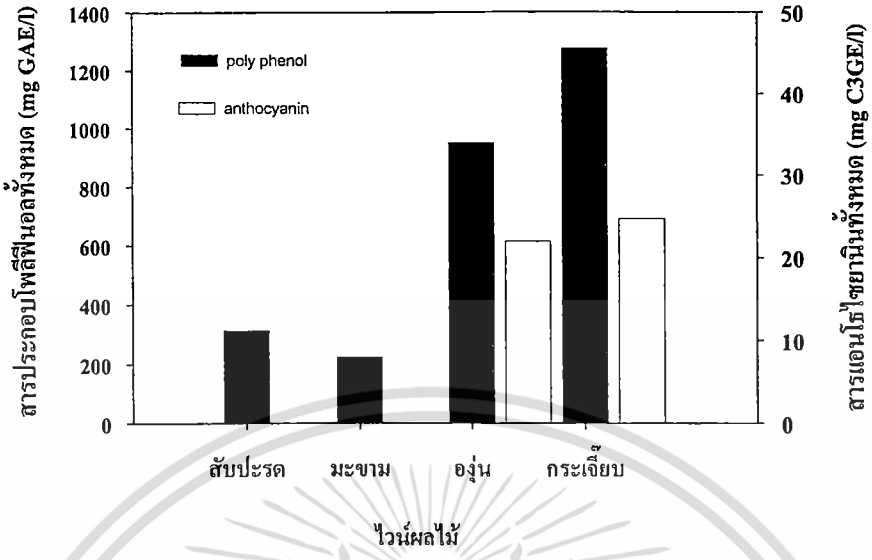
ภาพที่ 7(a) การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลาย และ แอลกอฮอล์ ระหว่างการหมักไวน์สับปะรด(○,●) , มะขาม (▽,▼), องุ่น (□,■) และกระเจี๊ยบ (◇,◆)

ภาพที่ 7(b) การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดและค่าพีเอช ระหว่างการหมักไวน์สับปะรด(○,●), มะขาม (▽,▼),องุ่น (□,■) และกระเจี๊ยบ (◇,◆)

4.2. การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในระหว่างการบ่มไวน์ผลไม้

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในไวน์ผลไม้หลังสิ้นสุดการหมักจากการเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก พบว่า ไวน์สับปะรด มะขาม องุ่น และกระเจี๊ยบมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 313.18, 222.27, 954.09 และ 1278.00 mg GAE/L ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 8 เมื่อนำไวน์ผลไม้ที่ผ่านการหมักอย่างสมบูรณ์ไปบ่มที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน ในระหว่างนี้ได้วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดทุกสัปดาห์ แสดงดังภาพที่ 9(a)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดและสารแอนโธไซยานินทั้งหมดในไวน์ผลไม้หลังสิ้นสุดการหมัก

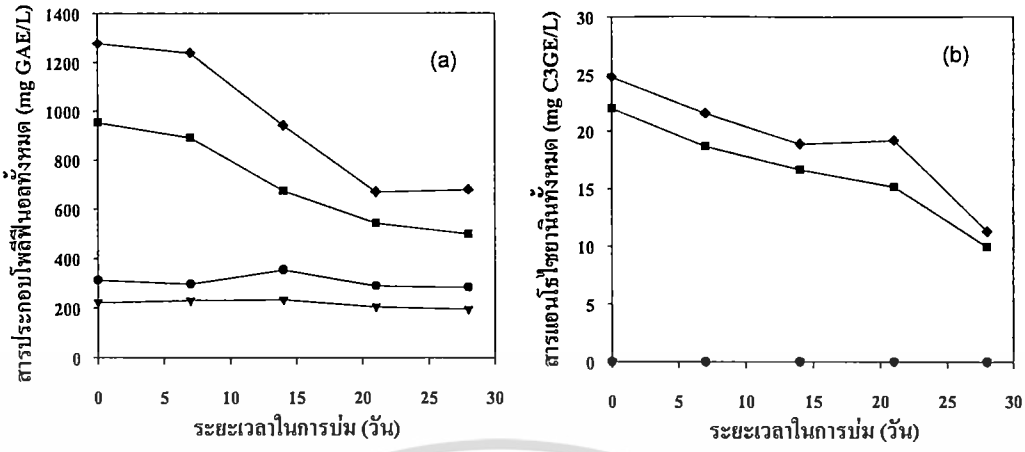
จากภาพที่ 8 และ 9(a) จะเห็นได้ว่า ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในระหว่างการบ่มมีแนวโน้มลดลง โดยเมื่อสิ้นสุดการบ่มปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในไวน์สับปะรด ไวน์มะขาม ไวน์องุ่นและไวน์กระเจี๊ยบมีค่า 285.91, 196.36, 502.81 และ 681.71 mg GAE/L ตามลำดับ ทั้งนี้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดจะมีปริมาณที่สูงในไวน์กระเจี๊ยบและไวน์องุ่นซึ่งเป็นไวน์แดง ส่วนในไวน์สับปะรดและไวน์มะขามซึ่งเป็นไวน์ขาวจะมีปริมาณน้อย ดังนั้นเมื่อนำผลไม้สีแดงมาใช้ในการผลิตไวน์นั้นจะได้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมาก

4.3. การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารแอนโธไซยานินทั้งหมดในระหว่างการบ่มไวน์ผลไม้

การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโธไซยานินทั้งหมดในรูปของ cyanidin-3-glucoside ในไวน์ผลไม้หลังสิ้นสุดการหมัก พบว่า จะตรวจพบสารแอนโธไซยานินในไวน์แดงเท่านั้น โดยไวน์องุ่นและไวน์กระเจี๊ยบมีปริมาณสารแอนโธไซยานินทั้งหมดเท่ากับ 22.02 และ 24.74 mg C3GE/L ตามลำดับ (ภาพที่ 8) เมื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารแอนโธไซยานินทั้งหมดในระหว่างการบ่มไวน์ผลไม้ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แสดงดังภาพที่ 9(b)

จากภาพที่ 9(b) จะเห็นได้ว่า ปริมาณสารแอนโธไซยานินทั้งหมดในระหว่างการบ่มมีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกับสารประกอบโพลีฟีนอล เมื่อสิ้นสุดการบ่มไวน์องุ่นและไวน์กระเจี๊ยบมีปริมาณสารแอนโธไซยานินทั้งหมดเท่ากับ 9.95 และ 11.28 mg C3GE/L ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



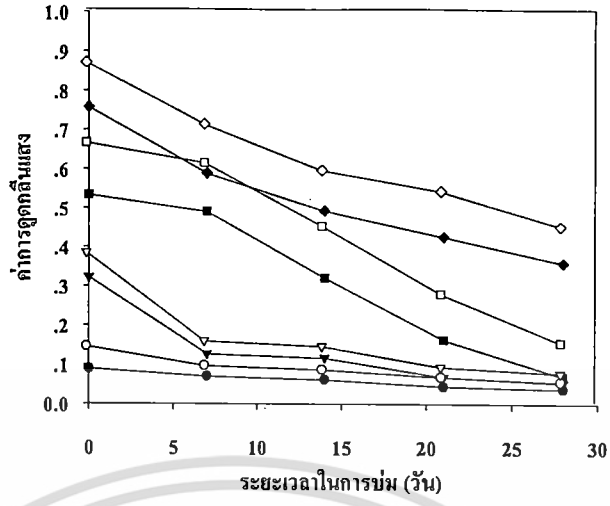
ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (a) และ สารแอนโธไซยานินทั้งหมด (b) ระหว่างการบ่มไวน์สับปะรด(●), ไวน์มะขาม (▼), ไวน์องุ่น (■) และไวน์กระเจี๊ยบ (◆) เป็นเวลา 4 สัปดาห์

4.4. การเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มของสีน้ำตาลและสีแดงในระหว่างการบ่มไวน์ผลไม้

ความเข้มของสีน้ำตาลและสีแดงในไวน์ผลไม้สามารถวัดได้โดยการนำไวน์ผลไม้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 และ 520 นาโนเมตร ตามลำดับ หากมีค่ามากแสดงว่าตัวอย่างไวน์ผลไม้นั้นมีสีน้ำตาลมาก หรือ แดงมาก จากภาพที่ 10 แสดงความเข้มของสีน้ำตาลและสีแดงหลังสิ้นสุดการหมักไวน์ (วันที่ 0 ของการบ่ม) จะเห็นว่า ไวน์สับปะรด ไวน์มะขาม ไวน์องุ่นและไวน์กระเจี๊ยบมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร เท่ากับ 0.323, 0.090, 0.536 และ 0.757 ตามลำดับ ในขณะที่การวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร มีค่าเท่ากับ 0.126, 0.341, 0.594 และ 0.778 ตามลำดับ ทั้งนี้ไวน์แดงจะแสดงความเข้มของสีน้ำตาลและแดงมากกว่าในไวน์ขาว โดยไวน์กระเจี๊ยบจะแสดงค่าความเข้มสีทั้งสองสูงที่สุด

จากการวัดค่าความเข้มของสีน้ำตาลและสีแดงในระหว่างการบ่มไวน์ผลไม้ได้ผลดังภาพที่ 10 จะเห็นได้ว่าค่าความเข้มของสีน้ำตาลและสีแดงในไวน์ผลไม้ทุกชนิดมีแนวโน้มที่ลดลงทั้งนี้เมื่อสิ้นสุดการบ่มไวน์กระเจี๊ยบยังคงแสดงค่าความเข้มของสีทั้งสองชนิดสูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 และ 520 nm ในไวน์สับประรด (●,○), ไวน์มะขาม (▼,▽), ไวน์องุ่น (■,□) และไวน์กระเจี๊ยบ (◆,◇) ระหว่างการบ่มเป็นเวลา 4 สัปดาห์

4.5. ความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด สารแอนโธไซยานินทั้งหมด และค่าความเข้มของสีแดงในไวน์แดง

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด สารแอนโธไซยานินทั้งหมด และค่าความเข้มของสีแดงในไวน์แดงหลังสิ้นสุดการบ่มไวน์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สามารถคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของสารทั้งสามชนิดนี้ได้ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างสารแอนโธไซยานินทั้งหมดกับสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และสารแอนโธไซยานินทั้งหมดกับค่าความเข้มของสีแดงในไวน์แดงหลังสิ้นสุดการบ่มไวน์เป็นเวลา 4 สัปดาห์

anthocyanins (mg C3GE/L)	polyphenols (mg GAE/L)	absorbance 520 nm
ไวน์องุ่น	0.9558	0.8803
ไวน์กระเจี๊ยบ	0.8892	0.9591

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดหลังสิ้นสุดการบ่มจะมีปริมาณที่สูงในไวน์กระเจี๊ยบและไวน์องุ่นซึ่งเป็นไวน์แดง (502-681 mgGAE/L) ส่วนในไวน์สับประรดและไวน์มะขามซึ่งเป็นไวน์ขาวจะมีค่าน้อย (196-285 mgGAE/L) ดังนั้นเมื่อนำผลไม้สีแดงมาใช้ในการผลิตไวน์นั้นจะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลมาก ทั้งนี้ปริมาณสารประกอบฟีนอลมีแนวโน้มลดลงในระหว่างการบ่มอาจเนื่องมาจากการตกตะกอนของสารประกอบฟีนอล เช่น แทนนินกับโปรตีน การเกิดออกซิเดชั่น โพลีเมอร์ไรเซชัน การดูดซับสารประกอบฟีนอลโดยเซลล์ยีสต์ ซึ่งส่งผลให้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมีค่าลดลงในระหว่างการบ่ม (Singleton, 1987)

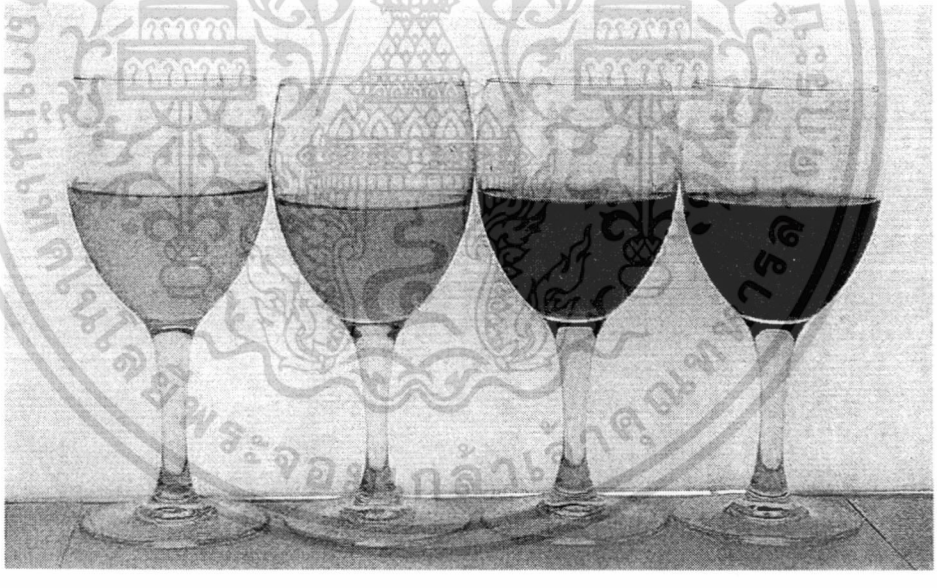
สารสีแอนโธไซยานินจะปรากฏเฉพาะในไวน์แดงเท่านั้น เนื่องจากแอนโธไซยานินเป็นสารสกัดที่ได้จากผลไม้ที่มีสีแดง ดังนั้นเมื่อนำผลไม้สีแดงมาใช้ในการผลิตไวน์จะได้ปริมาณสารแอนโธไซยานินมากด้วย สารแอนโธไซยานินนี้เป็นองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอล (Ribichaud and Noble, 1990) ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลในไวน์แดงมีปริมาณสูงขึ้นด้วยเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Monasgas, Gomez-Cordoves and Bartolome (2005) ติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าสีแอนโธไซยานินซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบ ฟีนอลในระหว่างการหมักและการบ่มไวน์ พบว่าปริมาณสารแอนโธไซยานินมีแนวโน้มลดลงในระหว่างการบ่ม ทั้งนี้การลดลงของแอนโธไซยานินในระหว่างการบ่มไวน์นั้น อาจเป็นผลมาจากการเปลี่ยนรูปไปสู่รูปแบบที่คงตัวมากกว่าโดยจะเกิดเป็น polymeric pigment ที่ทำให้สีแดงมีความคงตัวมากยิ่งขึ้น ในช่วงการบ่มออกซิเจนจะกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา couple oxidation ของ dihydroxyphenol เกิดเป็นสารควิโนนและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์นี้จะออกซิไดซ์แอลกอฮอล์เกิดเป็น acetaldehyde ซึ่งจะไปกระตุ้นการเกิด copolymerization ของแอนโธไซยานินกับสารประกอบฟีนอลหรือแทนนินไปอยู่ในรูป condensed form เช่น สาร elagotannin ซึ่งเกิดจากกลูโคสรวมตัวกับ ellagic acid ทำให้แอนโธไซยานินมีมากขึ้นกว่าในรูปอิสระและเมื่อเกิดการ condensation ถึงระดับหนึ่งจะเกิดการตกตะกอนของพวกที่มีโมเลกุลใหญ่ทำให้แอนโธไซยานินมีแนวโน้มลดลงในระหว่างการบ่ม (Zoecklein et al., 1995; Singleton, 1987; Pascal et al., 1983)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มของสีน้ำตาลและแดงในระหว่างการบ่มไวน์ผลไม้ พบว่าไวน์ผลไม้ทุกชนิดมีค่าความเข้มของสารสีทั้งสองชนิดลดลง ทั้งนี้สีแดงของไวน์แดงลดลง เนื่องมาจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในระหว่างการบ่มไวน์มีโอกาสสัมผัสอากาศจึงส่งผลให้ออกซิเจนละลายลงไปในไวน์ และทำให้เกิดการออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล เป็นผลให้สารแอนโธไซยานินซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดสีแดงนั้นเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชันกับแทนนินเกิดเป็นสาร โพลีเมอร์ที่มีขนาดใหญ่พอที่จะตกตะกอน (Singleton, 1987) ส่วนในไวน์ขาว Simpson (1982) ได้วัดค่าความเข้มของสีน้ำตาลโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร เช่นเดียวกัน พบว่าการเกิดสีน้ำตาลมีแนวโน้มลดลง อาจเกิดเนื่องจากการตกตะกอนของสารประกอบฟีนอลเช่นเดียวกับไวน์แดง แต่ค่อนข้างช้ากว่ามาก

จากความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด สารแอนโธไซยานินทั้งหมด และค่าความเข้มของสีแดงในไวน์แดงหลังสิ้นสุดการบ่มไวน์เป็นเวลา 1 เดือน จะเห็นว่าสารแอนโธไซยานินมีความสัมพันธ์กับสารประกอบโพลีฟีนอลในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อค่าสารประกอบโพลีฟีนอลเพิ่มขึ้น ค่าแอนโธไซยานินจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าสารแอนโธไซยานินมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับค่าความเข้มของสีแดงในไวน์แดงทั้งสองชนิดหลังสิ้นสุดการบ่มเป็นระยะเวลา 1 เดือน เช่นเดียวกัน



ภาพที่ 11 ไวน์ 4 ชนิด เรียงลำดับจากซ้ายไปขวา คือ ไวน์มะขาม ไวน์สับประรด ไวน์องุ่น และไวน์กระเจี๊ยบหลังสิ้นสุดการบ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

เอกสารอ้างอิง

กลมศักดิ์ ตั้งธรรมเนียม. 2546. **คู่มือไวน์**. พิมพ์ครั้งที่2. ดวงกมล. หน้า 235.

นพพร สงค์อิ่ม. 2539. **การสกัดและการประยุกต์ใช้ของสารประกอบแอนโธไซยานิน.** ปัญหาพิเศษ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ภัทราภรณ์ ศรีสมรรถการ. 2542. **ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณเมธิลแอลกอฮอล์และคุณภาพไวน์หม่อน** ***Morus alba*** **L.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สืบศักดิ์ กลิ่นสอน. 2534. **ผลของการหมักพร้อมเปลือกที่มีต่อคุณภาพไวน์แดงและการให้อากาศน้ำองุ่นก่อนหมักที่มีผลต่อคุณภาพไวน์ขาว**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Alfred, A. 2000. Alcohol, Wine, and Health. **Am. J. Surgery.** 180:357-361.

Bakker, J. and C.F. Timberlake. 1986. The mechanism of color changes in aging port wine. **Am. J. Enol . Vitic.** 37 (4) : 288-292.

Harbone, J. B. 1987. Anthocyanin: **McGraw-Hill Encyclopedia of Science of Technology.** 6th ed., McGraw-Hill Co., New York. 614 p.

Monagas, M., C. Gomez-Cordoves and B. Bartolome. 2005. Evolution of the phenolic content of red wines from *Vitis vinifera* L. during ageing in bottle. **Food Chem.** Available online 2 March 2005.

Pascal, R. G., P. Paul and G. Yves. 1983. Some interpretations of color changes in young red wines during their conservation. **J. Sci. Food Agr.** 34:505-516.

Phippen, W.B. and J.E. Simon. 1998. Anthocyanins in basil (Ocimum basilicum L.) **J. Agric. Food Chem.** 46: 1734-1738.

Ribichaud, J. L. and A. C. Noble. 1990. Astringency and bitterness of selected phenolic in wines. **J. Science Food Agri.** 53: 343-353.

Roberto, F., P.E. Maria, L. Giulia, T. Maria and R. Giampietro. 2001. Effects of resveratol on human immune cell function. **Life Science.** 70 : 81-96.

Sánchez-Moreno, C., G.Cao., B. Ou and R. L. Prior. 2003. Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines. oxygen radical absorbance capacity comparison with nontradition wines obtain from highbush blueberry. **J Agric. Food Chem.**.51 : 4899- 4896.

Simpson, R.F. 1982. Factors affecting oxidative browning of white wine. **Vitis.** 21 : 233-239.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

75519

Singleton, V.L. 1987. Oxygen with phenols and related reactions in musts, wine, and model system: observations and practical implications. **Am. J. Enol. Vitic.** 39 (1) : 69-77.

Singleton, V.L. and P. Esau. 1969. Phenolic Substances in Grape and Wine, and their Significance: **Advance in Food Research Supplement I.** Academic Press, New York. 282.

Slinkard, K. and V.L. Singleton. 1977. Total phenol analysis: Automatiom and comparison with manual methods. **Am. J. Enol. Vitic.** 28 (1) : 49-55.

Somers,T.C. and M.E. Evans. 1972. Spectral evaluyion of young red wines:anthocyanin equilibrium, total phenolics, free and molecular SO_2, chemical age. **J. Sci. Food Agric.** 28 : 279-287.

Zoecklein, B. W., K. C. Fugelsang, B. H. Gump and F. S. Nury. 1995. **Wine analysis and production.** New York. Chapman & Hall.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

สูตรอาหารและวิธีวิเคราะห์

1. อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ YM

Peptone	0.5 %
Dextrose	1 %
Yeast extract	0.3 %
Malt extract	0.3%
น้ำกลั่น	100 ml.

2. การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์

- นำเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisaie* varity *monthachae* มา steak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YM
- นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- จะพบโคโลนีขึ้นลักษณะเป็นโคโลนีสีเหลืองขุ่น
- เขี่ยโคโลนี 2-3 โคโลนี steak ลงบน YM slant นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะพบเชื้อขึ้น ตามรอยที่ทำการ steak
- เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ YM ลงในขวดลูกชมพู่ 250 มิลลิลิตร จำนวน 4 ใบ โดยมีปริมาตรแต่ละใบเท่ากับ 150 มิลลิลิตร ที่นำไปเข้าหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121°c เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น
- ใช้ loop เขี่ยเชื้อจาก YM slant ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM ในขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร ทั้ง 4 ใบ
- นำไปเข้าเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบ 250 rpm นาน 24 ชั่วโมง จะพบว่าสารอาหารเลี้ยงเชื้อ YM จะขุ่น

3. วิธีวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

3.1 การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดโดยใช้ Hand refractometer (AOAC, 1995)

3.1.1 วิธีการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ใช้แท่งแก้วจุ่มตัวอย่างไวน์ หยดลงบนปริซึมของเครื่อง Hand refractometer
2. ค่อย ๆ ปิดแผ่นใสที่ให้แสงผ่าน
3. สารละลายตัวอย่างต้องกระจายทั่วผิวปริซึม อย่าให้มีฟองอากาศ
4. ดูสเกลในเครื่องผ่านช่องมองของเครื่องโดยส่องดูกับแสงสว่าง
5. อ่านค่าองศาบริกซ์ที่สเกลตรงรอยต่อระหว่างสีขาวและสีฟ้า
6. ล้างน้ำกลั่น 2-3 หยด ทำความสะอาดและเช็ดด้วยกระดาษทิชชู่ให้แห้ง

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณเอธิลแอลกอฮอล์โดยวิธีไดโครเมตออกซิเดชั่น (AOAC, 1995)

3.2.1 วิธีการเตรียมสารเคมี

1. สารละลาย Potassium dichromate solution

เติมกรด H_2SO_4 (conc.) 325 มิลลิลิตร ลงในน้ำ 400 มิลลิลิตรอย่างช้า ๆ ใน บีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร คนเบา ๆ ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส เติม $K_2Cr_2O_7$ 33.768 กรัมคนให้ละลาย ทำให้เย็น ถ่ายใส่ขวดตวงปริมาตรขนาด 1 ลิตร ค่อยๆเติมน้ำลงไปจนปริมาตร เกือบถึงขีด ทำให้เย็น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

2. สารละลาย Ferrous ammonium sulfate solution

ละลาย $Fe(NH_4)_2(SO_4).6H_2O$ (ammonium ferrous sulfate) 135.5 กรัม ในน้ำ 500 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร เติมกรด H_2SO_4 (conc.) 30 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดตวงปริมาตรขนาด 1 ลิตร เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรครบ 1 ลิตร

3. สารละลาย 1,10-Phenanthroline indicator

ละลาย $FeSO_4.7H_2O$ (ferrous sulfate) 0.695 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วเติม *o*- Phenanthroline. H_2O 1.485 กรัม คนให้ละลาย แล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร

3.2.2 วิธีการทดลอง

1. การกลั่นตัวอย่างโดยใช้ Kjeldahl apparatus

ต้มน้ำกลั่นใน steam generator ให้เดือด แล้วเปิดให้น้ำเย็นไหลผ่าน condenser ใส่สารละลาย $K_2Cr_2O_7$ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วนำมาวางรองรับที่ปลาย condenser โดยให้ปลาย condenser จุ่มอยู่ในสารละลาย $K_2Cr_2O_7$ ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อยโปรตีน และใช้ขวดน้ำล้างฉีดรอบๆผิวด้านในหลอดกลั่นโปรตีนจนแน่ใจว่าไม่มีมีตัวอย่างติดค้าง นำหลอดย่อยโปรตีนไปเสียบต่อเข้ากับเครื่องแล้วเปิดให้ไอน้ำไหลเข้ามาในหลอดย่อยโปรตีน กลั่นจนกระทั่งปริมาตรของสารละลายใน Erlenmeyer flask ที่มีสารละลาย $K_2Cr_2O_7$ ที่ใช้รองรับสารละลายที่กลั่นได้ มีปริมาตรเพิ่มเป็นประมาณ 40 มิลลิลิตร ให้เอา Erlenmeyer flask ออกโดยใช้ขวดน้ำล้างฉีดที่ปลาย condenser ให้สารละลายที่ติดอยู่ไหลลงมาใน Erlenmeyer flask ปิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดียวกันกับสารละลายเทียบสีมาตรฐาน

คำนวณค่าความเป็นกรดทั้งหมดตามสูตร

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

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน NaOH

N = นอร์แมลที่แท้จริงของสารละลายมาตรฐาน NaOH

v = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้

Eq. Wt. = น้ำหนักสมมูลของกรด

3.4 การวัดความเป็นกรดด่างโดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ (AOAC, 1995)

3.4.1 วิธีการทดลอง

1. ปรับเครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง โดยใช้ Buffer solution ค่าความเป็นกรดด่าง 4.0 และ 7.0 ขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดด่างของไวน์

2. รินสารละลายตัวอย่างลงในบีกเกอร์ขนาดเล็ก คาดคะเนให้เมื่อจุ่มแท่งพีเอชแล้วมีระดับสูงท่วมสะพานเกลือของแท่งพีเอช

3. รอให้ตัวเลขบนหน้าปัดคงที่ประมาณ 5 วินาที อ่านค่าพีเอชที่ได้

4. นำแท่งวัดพีเอชออกจากสารละลายตัวอย่าง

5. ฉีดน้ำกลั่นล้างกระเปาะของแท่งพีเอช แล้วจุ่มแท่งพีเอชลงในสารละลายตัวอย่างต่อไปที่ต้องการวัด

6. เมื่อวัดพีเอชเสร็จแล้ว ให้เก็บแท่งพีเอชโดยฉีดน้ำกลั่นล้างกระเปาะของแท่งพีเอชให้สะอาด แล้วจุ่มแท่งพีเอชแช่ไว้ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ให้ท่วมสะพานเกลือ และให้ระดับของสารละลายอิเลคโตรไลท์ในแท่งพีเอชอยู่สูงกว่าระดับของสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ที่ใช้แช่ไม่น้อยกว่า 2 เซนติเมตร

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลในรูปกรดแกลลิก (Amerine and Ough, 1974)

3.5.1 วิธีการเตรียมสารเคมี

1. สารละลาย sodium carbonate : ละลาย 20 กรัม Na_2CO_3 ในน้ำ 100 มิลลิลิตร

2. สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก : ละลายกรดแกลลิก 0.5 กรัม ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2 วิธีการทดลอง

1. เตรียม calibration curve : ปิเปตสารละลายแกลลิก 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นได้ความเข้มข้น 0, 50, 100 ,150 และ 250 มิลลิกรัม/ลิตร

2. ปิเปตแต่ละความเข้มข้นมา 1 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask เติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร และเติม Folin-Ciocalteu reagent 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

3. เติมสารละลาย sodium carbonate ความเข้มข้นร้อยละ 20 มา 15 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

4. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 24 °c นาน 2 ชั่วโมง วัดค่า absorbance ที่ 765 nm ใช้น้ำกลั่นเป็น blank

5. นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟ standard curve

6. ปิเปตตัวอย่างไวน์ 1 มิลลิลิตร ไปวิเคราะห์ทำการทดลองตามข้อ 2-4 โดยไวน์แดงต้องทำการเจือจาง 1:10 ก่อน

3.6 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานิน (ดัดแปลงวิธี Fuleki and Francis, 1968; Somers and Evans, 1977)

3.6.1 วิธีการเตรียมสารเคมี

1. pH 1.0 buffer : ผสมสารละลาย KCl ความเข้มข้น 0.2 N จำนวน 125 มิลลิลิตร และสารละลาย HCl ความเข้มข้น 0.2 N จำนวน 385 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน ปรับ pH เป็น1.0 แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2. pH 4.5 buffer : ผสมสารละลาย sodium acetate ความเข้มข้น 1 M จำนวน 400 มิลลิลิตร และสารละลาย HCl ความเข้มข้น 1 N จำนวน 240 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน ปรับ pH เป็น4.5 แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3.6.2 วิธีการทดลอง

1. เจือจางสารละลายตัวอย่างด้วยสารละลาย pH 1.0 buffer ในอัตราส่วน 1:10

2. เจือจางสารละลายตัวอย่างด้วยสารละลาย pH 4.5 buffer ในอัตราส่วน 1:10

3. เก็บสารละลายตัวอย่างทั้งสองไว้ในที่มืดนาน 2 ชั่วโมง

4. วัดค่า absorbance ที่ 515 และ 700 นาโนเมตร ใช้น้ำกลั่นเป็น blank

คำนวณปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมดจากสูตร

$$\text{แอนโธไซยานิน} = \frac{(A_1 - A_2) \times MW \times DF \times 1000}{\varepsilon l}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

e = 29600

MW = 445

l = pathlength = 1.0

DF = Dilution factor

A_1 = ค่า absorbance ของตัวอย่างที่ 515 นาโนเมตร - 700 นาโนเมตร ใน pH 1.0 buffer

A_2 = ค่า absorbance ของตัวอย่างที่ 515 นาโนเมตร - 700 นาโนเมตร ใน pH 4.5 buffer

3.7 การวัดค่าความเข้มของสี (Slinkard, K. and Singleton, 1977)

วิธีการทดลอง

กรองตัวอย่างไวน์ด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร นำไปวัดค่าพีเอช แล้วเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วนไวน์ต่อน้ำเป็น 1: 10 แล้วปรับพีเอชให้เท่าเดิมโดยใช้ส่วนผสมของกรดซิตริกอย่างอ่อน (เจือจางแล้ว) กับ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (citrate) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 และ 520 นาโนเมตร โดยที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร แสดงถึงการมีปริมาณสีน้ำตาล (browness) ส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร แสดงถึงการมีปริมาณสีแดง (redness) ถ้ามีค่ามากก็แสดงถึงการมี สีน้ำตาลมาก หรือมีสีแดงมาก นำค่าที่วัดได้มาเปรียบเทียบกันในแต่ละตัวอย่างการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้