การผลิตไวน์สับปะรดผ่านการหมักด้วย *Saccharomyces cerevisiae* ที่เสริมด้วย *Cordyceps militaris*

Pineapple wine production through fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* supplemented with *Cordyceps militaris*

สาลิดา ศิริวาลย์

สุมิตตา บุญแก้ว

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pineapple wine production through fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* supplemented with *Cordyceps militaris*

SALIDA SIRIWARN

SUMITTA BUNKAEW

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGICAL FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การผลิตไวน์สับปะรดผ่านการหมักด้วย *Saccharomyces cerevisiae* ที่เสริมด้วย *Cordyceps militaris* Pineapple wine production through fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* supplemented with *Cordyceps militaris*
ชื่อนักศึกษา	นางสาวสาลิดา ศิริวาลย์ รหัสนักศึกษา 62050546 นางสาวสุมิตตา บุญแก้ว รหัสนักศึกษา 62050550
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	วิทยาศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.อารี ฤทธิบูรณ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2565

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการ	
รศ.อารี ฤทธิบูรณ์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตไวน์สับปะรดผ่านการหมักด้วย *Saccharomyces cerevisiae* ที่เสริมด้วย *Cordyceps militaris*

ชื่อนักศึกษา นางสาวสาลิดา ศิริวาลย์ รหัสนักศึกษา 62050546

นางสาวสุมิตตา บุญแก้ว รหัสนักศึกษา 62050550

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2565

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์อารี ฤทธิบูรณ์

บทคัดย่อ

การศึกษานี้จะทำการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง จากนั้นนำมาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและทำการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในดอกเห็ดถั่งเช่าด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC) พบว่ามีปริมาณคอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน และพอลิแซ็กคาไรด์เท่ากับ 3.64, 2.10 และ 16.97 มิลลิกรัมต่อกรัมต่อน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ทำการศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำหมักเริ่มต้นของการหมักไวน์โดยวิธีการ pour plate พบว่าความเข้มข้นโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ที่ 150 ส่วนในล้านส่วน จำนวนโคโลนีลดลงมากที่สุดเหลือเท่ากับ 5.56 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และทำการหมักไวน์ 5 สูตร โดยในแต่ละสูตรการทดลองทำการเตรียมน้ำหมักปริมาตร 700 มิลลิลิตร ที่อัตราส่วนน้ำสับปะรดต่อน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ 1:1 โดยแปรผันความเข้มข้นของสารสกัดถั่งเช่าสีทองในน้ำสับปะรดให้มีความเข้มข้นของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ 60 , 80 และ 100 กรัมต่อลิตร จำนวน 3 สูตรการทดลอง และมีสูตรที่ใช้เพียงน้ำสับปะรดและน้ำสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองอีก 2 สูตรการทดลอง ปรับค่าของแข็งที่ละลายได้ 22 องศาบริกซ์ และค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 4.0 ทำการหมักไวน์ด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และเก็บตัวอย่างทุก 3 วัน เป็นเวลา 15 วัน เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี คือปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละของกรดซิตริก) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ค่าพีเอช และปริมาณแอลกอฮอล์ พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากการหมักวันที่ 0-15 และมีปริมาณกรดสูงสุดเท่ากับร้อยละ 3.09 ในสูตรที่ 3 การเปลี่ยนแปลงค่า pH เป็นอยู่ในช่วง 3.5-3.8 ในระหว่างการหมัก 3-6 วัน ปริมาณของแข็งที่ละลายได้มีแนวโน้มลดลงจากวันที่ 0 – 15 โดยสูตรที่ 1 มีค่าต่ำสุดที่ 5.20 องศาบริกซ์ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรที่ 2, 3 และ 4 และพบปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดที่ร้อยละ 12.23 ในสูตรที่ 2 แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรที่ 1, 3 และ 4 นำไวน์ทั้ง 5 สูตรมาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสี ความใส กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมจากผู้ทดสอบ 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คน พบว่าคะแนนความชอบเฉลี่ยด้านสีและความใสสูตรที่ 1 มีระดับคะแนนสูงสุดเท่ากับ 4.23 และ 4.27 คะแนนอยู่ในเกณฑ์ชอบมาก ด้านกลิ่นทุกสูตรมีระดับคะแนนอยู่ในเกณฑ์คือ เฉยๆ ด้านรสชาติสูตรที่ 5 ที่ทำการบ่มเป็นเวลา 15 วัน มีระดับคะแนนสูงสุดเท่ากับ 4.03 คะแนนอยู่ในเกณฑ์ชอบมาก ในส่วนด้านความชอบโดยรวมได้คะแนนมากที่สุดคือสูตรที่ 5 เมื่อทำการบ่มเป็นเวลา 30 วัน มีระดับคะแนนเท่ากับ 3.90 คะแนนอยู่ในเกณฑ์ชอบมาก และเมื่อนำผลิตภัณฑ์ไวน์ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณของสารสำคัญด้วยเครื่อง HPLC พบว่าสูตรที่ 5 ที่ทำการบ่มเป็นเวลา 30 วัน รองลงมาคือสูตรที่ 5 เมื่อทำการบ่มเป็นเวลา 15 วัน และสูตรที่ 2 ที่ทำการบ่มเป็นเวลา 30 วัน มีปริมาณคอร์ไดเซปินเหลืออยู่ 0.67, 0.71 และ 0.82 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

คำสำคัญ : ไวน์, เห็ดถั่งเช่าสีทอง, สารคอร์ไดเซปิน, สับปะรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title Pineapple wine production through fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* supplemented with *Cordyceps militaris*

Students Miss Salida Siriwarn Student ID 62050546

Miss Sumitta Boonkaew Student ID 62050550

Degree BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)

Department Biology

School Science

University King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)

Academic Year 2023

Advisor Assoc.Prof. Aree Rittiboon

Abstract

In this study, Fruiting bodies of *Cordyceps militaris* were cultivated.Then, their bioactive compounds were extracted and analyzed with hight performance liquid chromatography 2.10 and 16.97 mg/g dryweight, respectively. The concentration of potassium metabisulfite was investigated on the inhibition of microorganisms in the starter culture medium used in wine fermentation by pour plate method. It was found that the concentration of potassium metabisulfite at 150 ppm., the number of colonies decreased the most to 5.56 colonies/ml. 5 formulas of wine fermentation were performed, in each formula, 700 ml of starter medium was prepared at the ratio of pineapple juice to *C. militalis* extract at 1:1. The concentration of *C. militalis* extract in pineapple juice was varied. The concentrations of *C. militaris* extractwere 60, 80 and 100 g/l for 3 experimental formulas and 2 formulas used only pineapple juice and *C. militaris* extract. The soluble solids were adjusted to 22 °brix and the initial pH was 4.0. Wine was fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and samples were collected every 3 days for 15 days to determine the chemical constituents, i.e. total acid content (percent of citric acid), soluble solids, pH and alcohol content. It was found that total acid content tended to increase from day 0-15 of fermentation and the highest acid content was 3.09% in the 3 formula. pH was changed to 3.5-3.8 for 3-6 days of fermentation perious., The soluble solids tended to decrease from 0 to

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15 days, with the 1 Formula had the lowest value at 5.20 °brix and not significantly different from the 2, 3 and 4, and the highest alcohol content at 12.23% in the 2 formula, not different significant from the 1, 3 and 4 formulas, All 5 formulas of wines were tested for sensory acceptance in terms of color, clarity, aroma, taste and overall preference among 30 testers It was found that the average scores for color and clarity, the formula 1 had the highest scores of 4.23 and 4.27, which were in the very like criteria. In terms of the flavor, all formulas had a score within the criterion, which is passive. The flavor of the 5 formulas that was aged for 15 days had the highest score of 4.03, in the very like criterion. In terms of overall liking, the highest score was the 5 formula when incubated for 30 days with a score of 3.90, in the very like criterion. When the wine products were analyzed for the content of active substances by HPLC, it was found that the 5 formula was incubated for 30 days, followed by the 5 formula when incubated for 15 days and the 2 formula was incubated for 30 days, the remaining cordycepin contents were 0.67, 0.71 and 0.82 mg/g dry weight, respectively.

Keywords : wine, *Cordyceps militaris*, cordycepin, pineapple

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี จากความกรุณาของรองศาสตราจารย์อารี ฤทธิบูรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำวิจัย และช่วยแก้ปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงาน อีกทั้งยังให้กำลังใจเสมอมา ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ และ ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ประธานกรรมการและกรรมการ อีกทั้งยังคอยให้คำแนะนำ ปรับปรุง แก้ไขในการทำโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา นักศึกษาปริญญาโท และเพื่อนๆ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพประจำห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงราที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ จนโครงงานพิเศษสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณกำลังใจจากแดนไกล ที่คอยเป็นกำลังใจอยู่ห่างๆ ทำให้ผู้วิจัยมีแรงจะต่อสู้กับความเหนื่อยล้าและพร้อมที่จะดำเนินการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ท้ายที่สุดขอขอบคุณครอบครัวผู้ปกครอง ตลอดจนญาติพี่น้องทุกคนสำหรับความห่วงใยกำลังใจและสนับสนุนส่งเสริมมาโดยตลอดซึ่งเป็นแรงสำคัญจนทำให้วิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สาลิดา ศิริวาลย์
สุมิตตา บุญแก้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ค
กิตติกรรมประกาศ..... จ
สารบัญ..... ฉ
สารบัญตาราง..... ญ
สารบัญรูป..... ฏ
บทที่ 1 บทนำ..... 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ..... 1
1.2 วัตถุประสงค์..... 2
1.3 ขอบเขต..... 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 3
2.1 ไวน์ (wine)..... 3
2.1.1 ประเภทของไวน์..... 3
2.2 การผลิตไวน์..... 5
2.2.1 การเตรียมน้ำวัตถุดิบ..... 5
2.2.2 การยับยั้งหรือการทำลายจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในน้ำวัตถุดิบ..... 6
2.2.3 การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์และการควบคุมการหมัก..... 6
2.2.4 การทำให้ไวน์ใส..... 7
2.2.5 การเก็บและการบ่มไวน์..... 7
2.2.6 การผสมปรุงแต่งไวน์..... 7
2.2.7 การทำให้ไวน์อยู่ตัว..... 7
2.2.8 การกรองไวน์ครั้งสุดท้าย..... 8
2.8.9 การบรรจุ..... 8
2.8.10 การหมักแอลกอฮอล์..... 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

2.3 สับปะรด 9
2.4 เห็ดถั่งเช่า 9
2.4.1 ประเภทของเห็ดสมุนไพรถั่งเช่า 9
2.4.2 สารสำคัญที่พบในเห็ดถั่งเช่าและสรรพคุณเห็ดถั่งเช่า 10
2.5 เห็ดถั่งเช่าสีทอง 11
2.5.1 การเพาะเห็ดถั่งเช่าทอง 11
2.5.2 สารคอร์ไดเซปิน 12
2.5.3 สารอะดีโนซีน 12
2.5.4 พอลิแซ็กคาไรด์ 13
2.5.5 สารประกอบพอลิฟีนอล 13
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 13
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 16
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ 16
3.1.1 วัตถุดิบ 16
3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ 16
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ 16
3.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือ 16
3.1.5 สารเคมี 17
3.2 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง 17
3.2.1 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยหนอนในขวดแก้ว 17
3.2.2 การเตรียมเชื้อในอาหารแข็ง PDA เสริม 17
3.2.3 การเตรียมเชื้อในอาหารเหลว PDB 18
3.2.4 การถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารเหลว PDB เสริมในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง สภาวะที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอน 18
3.3 การวิเคราะห์ปริมาณคอร์ไดเซปิน, อะดีโนซีนและพอลิแซ็กคาไรด์ในเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง 18
3.3.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ 18
3.3.2 ขั้นตอนการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าสีทอง 18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีน 18
3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์..... 19
3.3.4.1 ขั้นตอนการสกัด 19
3.3.4.2 การวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีแอนโทรน..... 19
3.4 การศึกษาปริมาณของโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสม ในน้ำสับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง 19
3.4.1 การเตรียมน้ำสับปะรด..... 19
3.4.2 การเตรียมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง 19
3.4.3 การเตรียมน้ำหมักเพื่อทดสอบปริมาณโพแทสเซียมเมตาไบซัลไต์ที่เหมาะสม ต่อการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำสับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง..... 19
3.4.4 การตรวจนับจำนวนปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด..... 20
3.5 ขั้นตอนกระบวนการหมักไวน์สับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถังเช่าสีทอง 20
3.5.1 การเตรียมน้ำสับปะรดคั้นและน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง 20
3.5.2 การเตรียมหัวเชื้อ..... 20
3.5.3 การหมักน้ำสับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง..... 20
3.5.4 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี 21
3.5.1 ปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดซิตริก)..... 21
3.5.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง..... 21
3.5.3 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้..... 21
3.5.4. ปริมาณแอลกอฮอล์..... 21
3.5.5 การบ่มไวน์..... 21
3.5.6 การฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ก่อนบรรจุ 21
3.6 การทดสอบประสาทสัมผัสทางด้านลักษณะปรากฏ..... 21
3.6.1 สี 22
3.6.2 ความใส..... 22
3.6.3 กลิ่น 22
3.6.4 ความชอบโดยรวม 22
3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ 22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล..... 23
4.1 ผลของการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง..... 23
4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีน..... 25
4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์..... 25
4.4 ผลการศึกษาปริมาณของโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในน้ำสับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง..... 25
4.5 น้ำหมักไวน์สับปะรดที่เสริมด้วยน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง.....26
4.6 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์ทั้ง 5 สูตร ในระยะเวลาทั้ง 15 วัน 27
4.7 ผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส 34
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 36
เอกสารอ้างอิง..... 39
ภาคผนวก..... **42**
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ.....43
ภาคผนวก ข ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง.....45
ภาคผนวก ค การเตรียมสารและการวิเคราะห์.....48
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์และการคำนวณ.....52
ภาคผนวก จ การวิเคราะห์ทางเคมีของไวน์สับปะรด.....58
ภาคผนวก ฉ การใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง.....60
ภาคผนวก ช วิธีการวิเคราะห์ทางสถิติ.....63
ภาคผนวก ซ ข้อกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของไวน์ผลไม้.....68
ภาคผนวก ฌ แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส.....75
ภาคผนวก ญ ผลการวิเคราะห์ค่าสถิติ.....76
ภาคผนวก ฎ การตรวจสอบอักขราวิสุทธิ์.....84
ประวัติผู้เขียน.....85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

3.1 ชุดการทดลองสำหรับศึกษาอัตราส่วนของน้ำสับปะรดและน้ำสกัดเห็ดถังเช่าสีทอง..... 21
4.1 ผลการศึกษาปริมาณของโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ที่เหมาะสมในน้ำสับปะรดที่เสริมด้วยน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าจากการ pour plate 25
4.2 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด (ซิตริก) ของการหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12, และ 15 ของ.....27
4.3 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (pH) ของการหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 28
4.4 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (°brix) ของการหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12, และ 15 29
4.5 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอลกอฮอลล์ของการหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12, และ 15 30
4.6 ผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสทางด้านสี ความใส กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมของไวน์สับปะรดที่เสริมด้วยน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้ง 5 สูตรที่เวลาบ่ม 15 วัน.....34
4.7 ผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสทางด้านสี ความใส กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมของไวน์สับปะรดที่เสริมด้วยน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้ง 5 สูตรที่เวลาบ่ม 30 วัน.....35
ภาคผนวกที่ ก1 สูตรอาหารแข็ง Potato dextrose agar (PDA)..... 43
ภาคผนวกที่ ก2 สูตรอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อสูตร 1 Potato dextrose broth (PDB)..... ... 43
ภาคผนวกที่ ก3 สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อเกิดดอกถั่งเช่าสีทอง 1000 มิลลิลิตร..... 44
ภาคผนวกที่ ค1 การเจือจางสารละลายกลูโคสมาตรฐานด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร..... 48
ภาคผนวกที่ ง1 ค่าโครมาโตแกรมของสารคอร์ไดเซปินในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง..... 53
ภาคผนวกที่ ง2 ค่าโครมาโตแกรมของสารอะดีโนซีนในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง.....54
ภาคผนวกที่ ง3 ค่า OD ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตรในการหาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ในเห็ดถั่งเช่าสีทอง.....56
ภาคผนวกที่ ญ1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการศึกษาโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ที่เหมาะสมในน้ำสับปะรดที่เสริมด้วยน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองจากการ pour plate..... 77
ภาคผนวกที่ ญ2 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของผลการศึกษาโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ที่เหมาะสมในน้ำสับปะรดที่เสริมด้วยน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองจากการ pour plate 77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ภาคผนวกที่ ญ3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเปลี่ยนแปลงปริมาณร้อยละกรดทั้งหมด (ในรูปซิตริก) ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 3, 6, 9, 12 และ 15.....77
ภาคผนวกที่ ญ4 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงปริมาณร้อยละกรดทั้งหมด (ในรูปซิตริก) ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15...78
ภาคผนวกที่ ญ5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (pH) ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15.....79
ภาคผนวกที่ ญ6 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช(pH) ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15.....79
ภาคผนวกที่ ญ7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเปลี่ยนแปลงปริมาณร้อยละของแข็งที่ละลายน้ำได้ (องศาบริกซ์) ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15.....80
ภาคผนวกที่ ญ8 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงปริมาณร้อยละของแข็งที่ละลายน้ำได้ (องศาบริกซ์) ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15.....80
ภาคผนวกที่ ญ9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเปลี่ยนแปลงปริมาณร้อยละแอลกอฮอล์ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15.....82
ภาคผนวกที่ ญ10 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงปริมาณร้อยละแอลกอฮอล์ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15...82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 ไวน์ (Wine)..... 3
2.2 โครงสร้างทางเคมีของคอร์ไดเซปิน..... 12
2.3 โครงสร้างทางเคมีของอะดีโซีน..... 12
4.1 ลักษณะเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA..... 23
4.2 ลักษณะเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญในอาหารเหลว PDB..... 23
4.3 ลักษณะเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อผลิตดอกในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก..... 24
4.4 ลักษณะของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว PDB เสริมในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่เป็นระยะเวลา 60 วัน..... 24
4.5 น้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง 26
4.6 ลักษณะของน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 ตัวอย่าง ในกระบวนการหมักไวน์..... 26
4.7 การเกิดปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักแต่ละสูตรทุกๆ 3 วัน..... 31
4.8 เปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในน้ำหมักแต่ละสูตรทุกๆ 3 วัน..... 32
4.9 การเปลี่ยนแปลงค่าของแข็งที่ละลายน้ำได้ในน้ำหมักแต่ละสูตรทุกๆ 3 วัน..... 33
4.10 การเกิดปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมักทั้งแต่ละสูตรทุกๆ 3 วัน 34
ภาคผนวกที่ ข1 ระยะการเจริญของหัวเชื้อเริ่มต้นเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหารแข็ง PDA หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 14 วัน..... 45
ภาคผนวกที่ ข2 การเจริญเติบโตของหัวเชื้อเริ่มต้นเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว PDB การเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าในที่มืดเป็นเวลา 3 วัน 45
ภาคผนวกที่ ข3 ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่ 46
ภาคผนวกที่ ข4 ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสริมไข่ไก่หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มีแสงหรือเปิดดอกเป็นเวลา 30 วัน..... 46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

ภาคผนวกที่ ข5 ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหาร PDB เสริมไข่ไก่หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มีแสงหรือเปิดดอกป็นเวลา 60 วัน 47
ภาคผนวกที่ ง1 กราฟมาตรฐานคอร์ไดเซปินในการวิเคราะห์ด้วยการใช้ HPLC ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อลิตร..... 53
ภาคผนวกที่ ง2 กราฟมาตรฐานอะดีโนซีนในการวิเคราะห์ด้วยการใช้ HPLC ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อลิตร..... 54
ภาคผนวกที่ ง3 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร..... 56
ภาคผนวกที่ ง4 กราฟโครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีสมรรถนะสูง..... 57
ภาคผนวกที่ จ1 เครื่อง Ebulliometer และแผ่นอ่านค่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์.....,,,,,, 00
ภาคผนวกที่ ช1 การใส่ข้อมูลตัวอย่างลงในโปรแกรม .....,,,. 63
ภาคผนวกที่ ช2 การเปรียบเทียบเชิงซ้อนของตัวอย่าง..... 63
ภาคผนวกที่ ช3 วิธีการใช้โปรแกรมคำนวณทางสถิติ..... 64
ภาคผนวกที่ ช4 รูปแบบการแสดงผลทางสถิติ 64
ภาคผนวกที่ ช5 วิธีการเปรียบเทียบเชิงซ้อนแบบ 2 ปัจจัย METHOD'S..... 65
ภาคผนวกที่ ช6 วิธีการเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วย Tukey method's แบบ 2 ปัจจัย..... 65
ภาคผนวกที่ ช7 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อนทางสถิติแบบ 2 ปัจจัย..... 66
ภาคผนวกที่ ช8 การคำนวณค่าสถิติและการเปรียบเทียบเชิงซ้อนแบบ CRD..... 66
ภาคผนวกที่ ช9 การคำนวณและเปรียบเทียบเชิงซ้อน..... 67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เห็ดถั่งเช่าสีทอง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cordyceps mitaris* เห็ดถั่งเช่าเป็นที่รู้จักมาตั้งแต่อดีตกาล ชาวจีนเชื่อว่าเป็นยาอายุวัฒนะ มีสรรพคุณช่วยปรับสมดุลของร่างกาย ตำราการแพทย์ทิเบตมีการบันทึกไว้ว่า เห็ดถั่งเช่าถูกใช้เป็นยาชูกำลัง ใช้รักษาสารพัดโรค (Winkler andYartsa, 2008) เห็ดถั่งเช่าสีทองอุดมไปด้วยสารสำคัญหลายชนิดที่มีผลทางชีวภาพ เช่น โมโนแซ็กคาไรด์ ไดแซ็กคาไรด์ โพลีแซ็กคาไรด์ (เบต้า-กลูแคน) แมนนิทอล กาแล็กโตส อะดีโนซีน คอร์ไดเซปิน กรดคอร์ไดเซปิน กรดอะมิโน โปรตีน สเตอรอล วิตามิน และแร่ธาตุที่เป็นประโยชน์หลายชนิด เห็ดถั่งเช่าสีทองประกอบไปด้วยนิวคลิโอไซด์ (nucleosides) มากกว่า 10 ชนิด นิวคลีโอไซด์เกี่ยวข้องกับกลไกและการทำงานของกลไกในกระบวนการทางสรีรวิทยาที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทส่วนกลาง (Gu *et al*., 2007) ต้านการเกิดเนื้องอก (Muller *et al*., 1977) พอลิแซ็กคาไรด์ในเห็ดถั่งเช่าสีทองช่วยต้านอนุมูลอิสระ เพิ่มภูมิคุ้มกัน ชะลอความชรา และมีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ (Yu *et al*., 2004) และส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันเช่น กรดคอร์ไดเซปิน และอะดีโนซีน ในเห็ดถั่งเช่าช่วยเพิ่มพลังงานภายในร่างกายนำมาใช้ในการเพิ่มความแข็งแรงของนักกีฬา (Parcell *et al*., 2004) ใช้ในการป้องกันและรักษาสารพัดโรค เช่น โรคหอบหืด วัณโรค โรคหลอดลมอักเสบ โรคไต โรคหัวใจ รวมถึงโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบไหลเวียนโลหิต ความดันโลหิตสูง ภาวะที่เม็ดเลือดขาวต่ำกว่าปกติ ลดระดับน้ำตาลในเลือด อาการอ่อนล้า เครียด นอนไม่หลับ โรคระบบประสาท โรคเบาหวาน เพิ่มภูมิคุ้มกัน เพิ่มความแข็งแรงของร่างกายให้ต้านทำงานต่อแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อเอชไอวี ต้านเซลล์มะเร็งและเซลล์เนื้องอก แก้ความผิดปกติทางเพศทั้งในเพศชายและหญิง (Kodama *et al*., 2000; Lin *et al*., 2007; Das *et al*., 2010) ซึ่งในปัจจุบันนี้การเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองกำลังเป็นที่นิยมอย่างมากเนื่องจากมีราคาแพงและมีผู้ต้องการเป็นอย่างมากในตลาดซึ่งในอนาคตมีแนวโน้มว่าราคาของเห็ดถั่งเช่าอาจจะลดลงเนื่องจากมีความนิยมในการเพาะเลี้ยงกันมากขึ้น จึงทำให้เกิดงานวิจัยนี้ขึ้นโดยได้นำเห็ดถั่งเช่าสีทองมาเสริมลงในไวน์สับปะรดเพื่อเพิ่มสารสำคัญเช่น คอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน และพอลิแซ็กคาไรด์เป็นต้น อีกทั้งยังเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการสำหรับไวน์สับปะรดและยังช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับเห็ดถั่งเช่าสีทองอีกด้วย

สับปะรดเป็นผลไม้เศรษฐกิจของประเทศไทยซึ่งสามารถปลูกได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทยอีกทั้งยังมีการบริโภคอย่างแพร่หลายและให้ผลผลิตตลอดทั้งปี ปัจจุบันมีการเพาะปลูกสับปะรดเพิ่มมากขึ้นในหลายพื้นที่ทั่วประเทศไทย จากการเพาะปลูกเป็นจำนวนมากทำให้เกิดปัญหาภาวะล้นตลาดและมีราคาถูก ในการแก้ปัญหาดังกล่าวมีการนำเอาสับปะรดมาแปรรูปเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ใหม่หลากหลายชนิด เป็นการยกระดับราคาสับปะรดให้สูงขึ้น และยังช่วยแก้ปัญหาการขาดทุนของเกษตรกร การนำสับปะรดมาใช้ในการผลิตไวน์เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่สับปะรด ถึงแม้น้ำสับปะรดจะมีคุณสมบัติที่สามารถผลิตไวน์ได้ แต่เนื่องจากความเป็นกรดสูงของน้ำสับปะรดทำให้ต้องมีการเจือจางความเข้มข้นของน้ำสับปะรดโดยผสมน้ำเพื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลดความเปรี้ยว (กนกวรรณ และคณะ, 2557) จึงส่งผลให้ไวน์สับปะรดที่ผลิตได้ขาดกลิ่น สี และรสชาติของน้ำสับปะรดที่ควรจะเป็น ผลิตภัณฑ์ไวน์สับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองสามารถยกระดับคุณภาพของไวน์ให้สูงขึ้นสามารถแข่งขันในตลาดค้าไวน์ได้ อีกทั้งยังเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับไวน์ เป็นผลิตภัณฑ์ตัวเลือกหนึ่งในด้านเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพของผู้บริโภค และยังจะส่งผลต่อการเพิ่มมูลค่าของสับปะรดให้สูงขึ้นอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองและการหาปริมาณสารสำคัญของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1.2.2 แปรผันปริมาณโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ

1.2.3 แปรผันอัตราส่วนของน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองกับน้ำสับปะรด

1.2.4 ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีในไวน์สับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองและการหาปริมาณสารสำคัญในเห็ดถั่งเช่าสีทอง เช่น คอร์ไดเซปิน, อะดีโนซีน และพอลิแซ็กคาไรด์

1.3.2 เพื่อศึกษาการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ ในน้ำสับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยการแปรผันปริมาณโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ที่ 50, 100 150, 200 และ 250 ส่วนในล้านส่วน และไม่ใส่ KMS เป็นชุดควบคุม

1.3.3 แปรผันอัตราส่วนน้ำสับปะรดต่อน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ความเข้มข้นของถั่งเช่า 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีน้ำสับปะรดและน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นชุดควบคุม

1.3.4 ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของไวน์สับปะรดในทางกายภาพได้แก่ สี ความใส กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม และในทางเคมีเช่น ปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดซิตริก) ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และปริมาณแอลกอฮอล์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบวิธีการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองและสามารถหาปริมาณสารสำคัญของเห็ดถั่งเช่าสีทองได้

1.4.2 ทราบปริมาณของสารสกัดถั่งเช่าสีทองที่ให้ผลเหมาะสมที่สุดในไวน์สับปะรด

1.4.3 เพื่อเพิ่มมูลค่าของเห็ดถั่งเช่าสีทองและไวน์สับปะรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไวน์ (wine)

ไวน์ (wine) หมายถึง เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักน้ำองุ่นด้วยเชื้อยีสต์ ไวน์ประกอบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ น้ำตาล คาร์โบไฮเดรต กรดอินทรีย์ รงควัตถุ สารให้กลิ่นรส วิตามิน และแร่ธาตุต่างๆ สามารถทำการหมักไวน์โดยใช้ยีสต์ที่เจริญตามธรรมชาติบนผิวของผลองุ่นหรืออาจเติมยีสต์ที่คัดเลือกไว้แล้ว ไวน์เป็นเครื่องดื่มที่นิยมทั่วโลกมาเป็นเวลานาน มีรสชาติหลากหลายสามารถเลือกดื่มให้เหมาะกับอาหารนานาชนิดทั้งก่อนหรือระหว่างรับประทานอาหารและตามโอกาสต่างๆ

รูปที่ 2.1 : ไวน์ (Wine)

ที่มา : https://www.matichonacademy.com/content/article_62623

สำหรับการทำไวน์ในประเทศไทยนั้นได้มีการผลิตมานานแล้ว แต่เนื่องจากพื้นที่ส่วนใหญ่ของประเทศไทยไม่สามารถปลูกองุ่นพันธุ์สำหรับทำไวน์ได้ จึงได้ศึกษาการทำไวน์จากผลไม้ชนิดต่างๆเช่น สับปะรด มะยม กระเจี๊ยบ กระท้อน มะเกี๋ยง มะเม่า ลูกหม่อน พิลังกาสา ตลอดจนเครื่องเทศสมุนไพรต่างๆเช่น ขิง ข่า ตะไคร้ และใบบัวบก เป็นต้น การใช้วัตถุดิบชนิดอื่นที่ไม่ใช่องุ่นมาทำไวน์จะเรียกตามชนิดของวัตถุดิบนั้น เช่น ไวน์สับปะรด ไวน์เม่า และไวน์มะม่วง เป็นต้น รวมถึงไวน์แอปเปิ้ลหรือที่เรียกว่า ไซเดอร์ (cider) ที่มีชื่อเสียงของประเทศอังกฤษ เตกีรา ผลิตจากต้นอากาเว (agave) ซึ่งเป็นพืชตระกูลเดียวกับป่านศรนารายณ์ ว่านหางจระเข้ หรือดอกโคมที่มีชื่อเสียงของประเทศแม็กซิโก และสาเก (sake) ผลิตจากข้าวของประเทศญี่ปุ่นเป็นต้น (ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2546)

2.1.1 ประเภทของไวน์

อาจแบ่งประเภทหรือชนิดของไวน์ได้หลายแบบ แล้วแต่ว่าจะถืออะไรเป็นหลัก เช่น

(1) สี แบ่งไวน์ได้เป็น 3 ชนิด

- ไวน์สีขาว
- ไวน์สีแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ไวน์สีชมพู (โรเซ่)

(2) ความหวาน แบ่งไวน์เป็น

- ไวน์ไม่หวาน (dry wines) จะมีน้ำตาลรีดิวซ์ไม่เกินร้อยละ 1
- ไวน์หวานเล็กน้อย (semi dry wines) จะมีน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 2-5
- ไวน์หวาน (sweet wines) จะมีน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่าร้อลละ 5

(3) ปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ แบ่งไวน์ได้เป็น

- ไวน์ที่มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 8 – 14 โดยปริมาตร (ดีกรี)
- ไวน์ที่มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 15 - 17 โดยปริมาตร (ดีกรี)
- ไวน์ที่มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 18 - 22 โดยปริมาตร (ดีกรี)

(4) แก๊สที่ละลายในไวน์ แบ่งไวน์ได้เป็น

- ไวน์นิ่ง (still wines) ไม่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ละลายในไวน์ หรือมีแก๊สละลายอยู่น้อย
- ไวน์ฟอง (sparkling wines) มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ละลายในไวน์ปริมาณหนึ่งตามที่กฎหมายกำหนด

(5) การเติมกลิ่นรสและสารสกัดสมุนไพร และเครื่องเทศในไวน์ แบ่งไวน์ได้ เป็น

- ไวน์ไม่เติมกลิ่นรสและสารสกัดสมุนไพรและเครื่องเทศ
- ไวน์เติมกลิ่นรสและสารสกัดสมุนไพรและเครื่องเทศ

(6) วัตถุดิบ แบ่งไวน์ได้เป็น

- ไวน์องุ่น
- ไวน์ข้าว
- ไวน์ผลไม้
- ไวน์จากวัตถุดิบทางการเกษตรอื่นๆ เช่น ดอกไม้ ใบไม้ ผลไม้ สมุนไพร น้ำผึ้ง น้ำตาลสด เป็นต้น

(7) ความนิยมทั่วไป ใช้กันมาก แบ่งไวน์ได้เป็น

- ไวน์ประจำโต๊ะอาหาร (table wines) ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นไวน์นิ่ง
- ไวน์ฟอง (sparkling wines)
- ไวน์เติมแอลกอฮอล์กลั่นหรือบรั่นดี (fortified wines) ทำให้ไวน์มีแรงแอลกอฮอล์สูงกว่าร้อยละ 14 โดยปริมาตร (ดีกรี) ยังแบ่งย่อยออกเป็น
    1) ไม่เติมกลิ่นรสและสารสกัดสมุนไพรและเครื่องเทศ เช่น sherry, port, Mdiera เป็นต้น
    2) เติมกลิ่นรสและสารสกัดสมุนไพรและเครื่องเทศ เช่น Vermouth, Martini, Dubonnet เป็นต้น บางตำราเรียกไวน์กลุ่มนี้ว่า aromatised wines, fortified wines มีทั้งแบบไม่หวานและแบบหวาน มีทั้งสีขาว สีแดง และสีอื่นๆ ถ้าเป็นแบบไม่หวานจะใช้ดื่มก่อนอาหารเพื่อเรียกน้ำย่อย เป็น apprtizer หรือ aperitif

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่ถ้าเป็นแบบหวานจะดื่มหลังอาหารเป็น dessert wines หรือเป็น digestive wines

(8) อื่นๆ (other) เช่น

- ไวน์แอลกอฮอล์ต่ำ (low alcohol wines) มีแรงแอลกอฮอล์ในไวน์ต่ำกว่าร้อยละ 8 โดยปริมาตร (ดีกรี) ไวน์คูลเลอร์อาจจัดอยู่ในประเภทนี้
- ไวน์ที่ถูกกำจัดแอลกอฮอล์ออกไป (dealcohollised wined) อาจมีแอลกอฮอล์ในไวน์บ้างแต่ไม่เกินร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร เป็นไวน์ที่ผลิตขึ้นสำหรับผู้อยากดื่มไวน์แต่แพ้แอลกอฮอล์ หรือสำหรับผู้บริโภคที่นับถืออิสลามหรือศาสนาอื่น ซึ่งมีบทบัญญัติห้ามดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

2.2 การผลิตไวน์ (อรอง จันทร์ประสาทสุข, 2561)

การผลิตไวน์และแอลกอฮอล์ในสมัยก่อนเกิดจากการหมักน้ำผลไม้เป็นเรื่องบังเอิญ จึงไม่สามารถควบคุมการหมักและการเกิดไวน์ได้ นอกจากนี้ยังมีการค้นพบซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ช่วยไม่ให้ไวน์เกิดการเน่าเสีย หลังจากนั้นเทคโนโลยีในการผลิตไวน์ รวมทั้งเทคโนโลยีการปลูกองุ่นได้พัฒนาอย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง มีความเข้าใจเป็นอย่างดีในกระบวนการหมักไวน์ เข้าใจบทบาทของจุลินทรีย์และการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมี เข้าใจความสำคัญของผลไม้ที่นำมาใช้ในการหมักไวน์ คุณภาพของไวน์ขึ้นกับปัจจัย 2 ประการ ได้แก่ คุณภาพของวัตถุดิบ ซึ่งขึ้นกับสายพันธุ์ สภาพดิน น้ำ แสงแดด ความชื้น วิธีการปลูก โรค แมลง เป็นต้น และเทคโนโลยีการผลิตซึ่งยังขึ้นกับความรู้และประสบการณ์ของผู้ผลิตไวน์และผู้ควบคุมคุณภาพ ยังขึ้นกับอุปกรณ์เครื่องจักรในการผลิตและควบคุมคุณภาพไวน์ขั้นตอนหลัก 9 ประการในการผลิตไวน์ ได้แก่

2.2.1 การเตรียมน้ำวัตถุดิบ

เป็นขั้นตอนที่สำคัญมาก หากเตรียมไม่ถูกต้อง อาจทำให้ไวน์คุณภาพไม่ดี ไม่ได้มาตรฐานหรือมีความบกพร่องโดยคัดเลือกวัตถุดิบ วัตถุดิบต้องมีคุณภาพดี อาจมีตำหนิบ้างแต่ต้องไม่ช้ำ ปริแตกหรือเน่าเสียมีเชื้อรา มีกลิ่นเปรี้ยวน้ำส้มสายชู และล้างกำจัดสิ่งสกปรกในวัตถุดิบในน้ำสะอาดแล้วบีบคั้นหรือสกัดน้ำออก จากนั้นกำจัดส่วนที่ไม่ต้องการ ส่วนที่ต้องการนำมาทำเป็นชิ้นเล็กๆ หากจำเป็นต้องเติมน้ำ ต้องเติมในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อรักษากลิ่น รส สี และปริมาณสารอาหารสำหรับยีสต์ที่มีในน้ำวัตถุดิบ บันทึกปริมาตรน้ำวัตถุดิบและใช้ refractometer วัดปริมาณของแข็ง (°brix) ปรับเป็น 21 – 22 °brix ด้วย น้ำตาลทรายหรือน้ำวัตถุดิบเข้มข้น ถ้าเติมน้ำผึ้งควรระวังกลิ่นน้ำผึ้งจะกลบกลิ่นวัตถุดิบ สูตรการคำนวณปริมาณน้ำตาลทรายขาวที่ต้องเติมเพื่อปรับ °brix โดยคำนวณปริมาณน้ำตาลทรายขาวทีต้องเติม (กก.) จากสูตร

$$\frac{(\text{องศาบริกซ์})_{\text{ที่ต้องการ}} - (\text{องศาบริกซ์})_{\text{เดิม}}}{100 - (\text{องศาบริกซ์})_{\text{ที่ต้องการ}}} \times \text{ปริมาตรน้ำ (ลิตร)}$$

สามารถลด (องศาบริกซ์) ทำโดยการเติมน้ำสะอาด แต่นิยมเติมน้ำวัตถุดิบที่มีองศาบริกซ์ต่ำ จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณกรดในน้ำวัตถุดิบขึ้นอยู่กับวัตถุดิบและลักษณะของไวน์ เช่น ไวน์ข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และไวน์พืชผักสมุนไพรจะมี ร้อยละปริมาณกรดต่ำกว่าองุ่นและไวน์ผลไม้ ปกติไวน์องุ่นจะมีปริมาณกรดประมาณ 4-6 กรัม/ ลิตร (คำนวณเป็นกรดทาร์ทาริก) การลดปริมาณกรดโดยการเติมน้ำแต่ไม่นิยมเติม $CaCO_3$ หรือ $NaHCO_3$ หรือเติมน้ำวัตถุดิบที่มีปริมาณกรดต่ำอาจเติม Malo – lactic bacteria ก็ได้ การเพิ่มปริมาณกรดโดยการเติมกรดอินทรีย์ เช่น กรดทาร์ทาริก กรดซิตริกและกรดฟูมาริกในน้ำองุ่นและน้ำผลไม้สำหรับไวน์ข้าวควรเติมกรดแลคติก

2.2.2 การยับยั้งหรือการทำลายจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในน้ำวัตถุดิบ

บางแห่งไม่ทำขั้นตอนนี้ นิยมให้เกิดการหมักไวน์โดยเชื้อจุลินทรีย์ตามธรรมชาติที่ติดมากับวัตถุดิบ แต่ไวน์ที่ได้มักมีคุณภาพไม่แน่นอน เป็นการเสี่ยงในการลงทุนทางธุรกิจ ในปัจจุบันจึงนิยมยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในวัตถุดิบโดยใช้ความร้อน โดยต้มให้เดือดประมาณ 5 นาที หรือพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10-15 นาที แล้วรีบทำให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้อง และสารเคมี สารเคมีที่ใช้ต้องไม่สะสมอยู่ในน้ำวัตถุดิบต้องสลายตัวง่าย สารเคมีที่นิยมใช้ คือซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หรือ SO_2 ซึ่งเป็นแก๊สที่หาซื้อได้ยาก จึงนิยมใช้เกลือซึ่งแตกตัวให้ SO_2 คือ KMS (potassium metabisulfite $K_2S_2O_5$) หรือ SMS (sodium metabisulfite $Na_2S_2O_5$) ในของเหลวที่มี pH ประมาณ 3.5 เกลือ KMS หรือ SMS จะแตกตัวได้ SO_2 ประมาณครึ่งหนึ่งของน้ำหนักเกลือที่เติมลงไป สมมุติว่าเติม KMS หรือ SMS 200 ส่วนในล้านส่วน มันจะแตกตัวที่ pH ประมาณ 3.5 ได้ SO_2 ประมาณ 100 ส่วนในล้านส่วน ปกติปริมาณของ KMS หรือ SMS ที่เพียงพอในการยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ในน้ำวัตถุดิบคือ 150-200 ส่วนในล้านส่วน หลังจากเติมเกลือนี้อย่างน้อย 6 ชั่วโมง จึงเติมกล้าเชื้อยีสต์ลงไปหมัก

2.2.3 การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์และการควบคุมการหมัก

ยีสต์ที่ใช้หมักไวน์เป็นยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* มีหลายสายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตไวน์ เช่น Burgundy เป็นต้น อาจใช้ในรูปยีสต์สดบนวุ้นเลี้ยงเชื้อหรือยีสต์ผงก็ได้ ในการผลิตไวน์ในทางอุตสาหกรรมจะนิยมใช้ยีสต์ผงเพราะสะดวกใช้ง่าย ราคาไม่แพง เก็บไว้นานได้เป็นปี หมักได้คุณภาพดีและสม่ำเสมอ

การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ ถ้าหากเป็นกล้าเชื้อยีสต์สดต้องเพาะเลี้ยงขยายในน้ำวัตถุดิบที่แบ่งมาในปริมาณร้อยละ 1-5 ซึ่งได้ต้มฆ่าเชื้อปนเปื้อนและทำให้เย็นและกล้าเชื้อควรมีอายุ 1-2 วัน ถ้าหากเป็นยีสต์ผงก่อนใช้ต้องทำการให้เชื้อเจริญในน้ำวัตถุดิบหรือน้ำอุ่นประมาณ 40 องศาเซลเซียสก่อน ปริมาณการใช้และวิธีการใช้จะระบุในภาชนะบรรจุยีสต์ผงนั้น

การควบคุมการหมักเป็นเรื่องที่ต้องติดตามใกล้ชิดทุกวัน ภาชนะที่ใช้หมักควรเป็นวัสดุที่แข็งแรงทนต่อกรดต่อแอลกอฮอล์ ไม่เป็นสนิมหรือผุกร่อนรั่วซึม ทำความสะอาดได้ง่าย ถังหมักขนาดใหญ่ควรออกแบบให้เหมาะสม สามารถควบคุมอุณหภูมิของการหมักได้ ไวน์ขาวควรหมักที่ 15-18 องศาเซลเซียส ไวน์แดงควรหมักที่ 15-25 องศาเซลเซียส และต้องหมักทั้งเปลือกและผิวของวัตถุดิบที่มีสีแดง ควรคนหรือกวนไวน์ทุกวัน ๆ ละ 1-2 ครั้ง เก็บตัวอย่างไวน์ที่กำลังหมักเพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลง °brix หรือการเพิ่มร้อยละแอลกอฮอล์ทุก 1-2 วัน ควรดมกลิ่นตัวอย่างไวน์ด้วยว่ามีความบกพร่องหรือไม่ควรใช้ระยะเวลาในการหมัก 3-4 สัปดาห์

2.2.4 การทำให้ไวน์ใส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากการหมักเสร็จควรถ่ายตะกอนไวน์ทิ้ง (rack) เก็บไวน์ที่อุณหภูมิต่ำ 10-15 องศาเซลเซียส และใส่เกือบเต็มถัง เติม KMS หรือ SMS 60-80 ส่วนในล้านส่วน ควรถ่ายตะกอนไวน์ทิ้ง 1-2 ครั้ง ภายใน 2 สัปดาห์ จากนั้นเร่งทำให้ไวน์ใสโดยการปั่นตะกอนแยก (centrifugation) เติมสารเพื่อตกตะกอนให้ไวน์ใส (Fining) เช่น เบนโทไนท์ แทนนิน สารละลายซิตริก ไข่ขาวและกรองไวน์โดยใช้เครื่องกรองพร้อมไส้กรอง หรือแผ่นกรองที่มีขนาดรูกรองที่เหมาะสมการทำให้ไวน์ใสเร็วอาจใช้วิธีดังกล่าว 2-3 วิธีช่วยเสริมกัน ไวน์ที่ถูกทำให้ใสนี้ไม่ถือว่าเป็นไวน์ที่อยู่ตัว

2.2.5 การเก็บและการบ่มไวน์

ควรเก็บไวน์ในขวดหรือถังสแตนเลสที่สะอาด ใส่ไวน์ให้เกือบเต็มขวดหรือถังมีที่ว่างของอากาศในภาชนะที่เก็บไวน์น้อยที่สุด บางครั้งจำเป็นต้องแทนอากาศด้วยแก๊สเฉื่อย เช่น CO_2 และ N_2 แล้วปิดฝาให้มิดชิด ลดอุณหภูมิของถังไวน์ในถังเก็บ ประมาณ 10-15 องศาเซลเซียส รักษาปริมาณของซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระ 30-40 ส่วนในล้านส่วน จุดประสงค์ของการเก็บไวน์เพื่อพักไวน์ไว้ระยะหนึ่งก่อนที่ไวน์จะเข้าสู่ขั้นตอนต่อไป ไม่ต้องการให้ไวน์คุณภาพดีขึ้น การบ่มไวน์คือ การเก็บไวน์ไว้ในภาชนะที่เหมาะสม บรรจุไวน์ให้เต็มภาชนะ ให้มีที่ว่างของอากาศน้อยที่สุดในภาชนะหรือแทนที่อากาศด้วยแก๊สเฉื่อย เช่น ไนโตรเจน หรือคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อป้องกันการออกซิเดชั่น อาจบ่มไวน์ในถังสแตนเลสหรือถังไม้โอ๊กก็ได้ ไวน์องุ่นพันธุ์ดี เช่น Cabernet Sauvignon, Merlot เป็นต้น มักนิยมบ่มในถังไม้โอ๊ก เหตุที่นิยมบ่มไวน์ในถังไม้โอ๊กเพราะเป็นไม้เนื้อแข็ง เนื้อไม้ละเอียด อากาศผ่านเข้าหรือออกได้เล็กน้อยเนื้อไม้มีสารเคมีสำคัญ ซึ่งเมื่อถูกสกัดด้วยแอลกอฮอล์ในไวน์แล้วจะให้สี กลิ่น และรสที่ดีแก่ไวน์ ถังไม้โอ๊กมีขนาดต่างๆกัน โรงงานไวน์แต่ละแห่งจะบ่มไวน์ในถังไม้โอ๊กทั้งถังใหม่และถังเก่า ถังใหม่จะให้สี กลิ่น และรสของสารสกัดไม้โอ๊กที่เข้มข้นแก่ไวน์ ความเข้มข้นของสารสกัดจะลดลงมากเมื่อถังไม้โอ๊กใหม่ผ่านการใช้บ่มไวน์แล้ว 4-5 ปี แต่ทางโรงงานไวน์ก็ยังใช้ถังไม้โอ๊กเก่าในการบ่มไวน์ต่อไปอาจใช้งานได้อีก 10-20 ปี หลังจากไวน์ผ่านการบ่มในถังไม้โอ๊กใหม่แล้ว หรือใช้บ่มไวน์ที่มีราคาถูกหรือใช้บ่มไวน์ที่ไม่ต้องการสี กลิ่น และรสจากไม้โอ๊กมากนัก

2.2.6 การผสมปรุงแต่งไวน์

นำไวน์ 2 ชนิดมาผสมกันในอัตราส่วนต่างๆ อาจเติมน้ำตาล กรด หรือสารเพิ่มความฝาดเฝื่อนก็ได้ การนำไวน์ใส 2-3 ชนิด มาผสมกันอาจทำให้ไวน์เกิดความขุ่นได้เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของไวน์เปลี่ยนไป จุดประสงค์ของการผสมปรุงแต่งไวน์ เพื่อต้องการให้คุณภาพของไวน์ดีขึ้น มีคุณภาพสม่ำเสมอทุกครั้งหรือทุกปีที่ผลิตจำหน่าย

2.2.7 การทำให้ไวน์อยู่ตัว

เป็นขั้นตอนที่สำคัญขั้นตอนหนึ่งในการผลิตไวน์ ไวน์ไม่อยู่ตัวคือการที่ไวน์เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านความใสและสีหลังจากบรรจุขวดและเก็บไว้ระยะหนึ่งพบว่าไวน์บางขวดเมื่อตั้งในห้องหรือแช่ตู้เย็นระยะหนึ่ง จะเกิดความขุ่นหรือผลึกสีขาวภายในขวด แสดงว่าไวน์ไม่อยู่ตัว เป็นไวน์ไม่เสียใช้ดื่มได้แต่แสดงว่าผู้ผลิตมีเทคโนโลยีในการผลิตไม่ดีพอ สาเหตุหลักที่ทำให้ไวน์ไม่อยู่ตัวเนื่องจากจุลินทรีย์ ยังมีจุลินทรีย์หลงเหลืออยู่ในไวน์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ทนต่อแอลกอฮอล์และกรดสามารถใช้แอลกอฮอล์และกรดเป็นอาหารได้ หากไวน์ยัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีน้ำตาลเหลืออยู่จะยิ่งมีโอกาสไม่อยู่ตัวมากขึ้น การทำให้ไวน์อยู่ตัวในปัญหานี้ทำได้โดยก่อนบรรจุไวน์ให้และทางเคมี มีสารเคมีหลายตัวที่ทำให้ไวน์ไม่อยู่ตัวเช่น โปรตีน ผลึกโพแทสเซียมไบทาร์เทต เม็ดสีและโลหะหนัก

2.2.8 การกรองไวน์ครั้งสุดท้าย

เพื่อกำจัดความขุ่นทุกชนิดที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่าเป็นการสร้างความมั่นใจในความใสของไวน์ก่อนทำการบรรจุขวด ทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบ sterile filtration รูแผ่นกรองหรือแท่งกรองมีขนาด 0.4 microns หรือเล็กกว่าไวน์ที่จะกรองต้องมีความใสมาก

2.2.9 การบรรจุ

ก่อนที่จะบรรจุไวน์ ต้องมั่นใจว่าไวน์มีคุณภาพดีตามที่ต้องการผ่านการผสมปรุงแต่งความใสและอยู่ตัว ขวดที่ใช้บรรจุควรเป็นขวดสี อาจเป็นสีเขียวหรือสีชา แห้ง สะอาด ไม่ร้าว ควรบรรจุไวน์เกือบเต็มขวด มีที่ว่างของอากาศในขวดน้อย อาจแทนที่อากาศในขวดด้วยแก๊สเฉื่อย เช่น CO_2 หรือ N_2 มี SO_2 อิสระในไวน์ประมาณ 25-30 ส่วนในล้านส่วน จุกไม้ก๊อกที่ปิดปากขวดไวน์ควรมีคุณภาพดี มีความยาวพอเหมาะ ฉลากไวน์ต้องมีทั้งตัวอักษรและภาพต้องเป็นไปตามข้อกำหนดกฎหมาย ไม่โอ้อวดคุณภาพไวน์ ควรให้ผู้บริโภคทราบว่าไวน์ขวดนั้นทำจากวัตถุดิบอะไร ปีผลิต แหล่งผลิต และสไตล์ไวน์ ความหวาน ปริมาณแอลกอฮอล์ และปริมาตรบรรจุ ปัจจุบันบางประเทศบังคับให้ระบุชนิดและปริมาณของ SO_2 และสารกันบูดที่เติมบนฉลากหลังของไวน์ด้วย

2.2.10 การหมักแอลกอฮอล์

ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลฟรุคโตสให้เป็นแอลกอออล์และมีผลพลอยได้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการข้างล่าง โดยตามทฤษฎีจะได้แอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 50 จากปริมาณน้ำตาลที่ใช้ แต่ในทางปฏิบัติมักไม่ถึง เพราะจะเกิดผลพลอยได้เป็นสารให้กลิ่นรสอีกหลายชนิด ได้แก่ เอทานอล ร้อยละ 48.4 คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 46.5 กรดอะซิตริกร้อยละ 0.05-0.25 แอซีทาลดีไฮด์ กลีเซอรอล กรดแลคติก กรดซัลซิลิค ฟูเซลออยล์ และเฟอร์ฟูรอล

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

ดังนั้นหากเราหมักน้ำตาลที่มีปริมาณน้ำตาล 20 องศาบริกส์หรือ 200 กรัมต่อลิตร เราน่าจะได้แอลกอฮอล์ประมาณ 100 กรัมต่อลิตรหรือร้อยละ 10 หรือต่ำกว่านี้เล็กน้อยเพราะเสียเป็นผลพลอยได้ แต่เมื่อคำนวณปริมาณเป็นร้อยละโดยปริมาตร เราจะต้องใช้ค่าความถ่วงจำเพาะของแอลกอฮอล์มาคำนวณ คือ 0.7893 ทำให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นมากกว่าร้อยละ 10 เช่น ถ้ามีแอลกอฮอล์ 96.3 กรัมต่อลิตร จะได้ร้อยละ 12.2 โดยปริมาตร (9.63 หาร 0.7893) ในการหมักยีสต์จะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วง 2 – 3 วันแรก หลังจากนั้นการเจริญเติบโตจะช้าลงจนถึงช่วงที่ไม่เพิ่มจำนวนขึ้น แต่ในช่วงนี้ก็ยังมีการเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ขึ้นเรื่อย ๆ และปริมาณน้ำตาลก็ลดลง และมีการสร้างสารให้กลิ่นรสต่างๆ ในช่วงนี้ด้วย ดังนั้นจึงต้องหมักต่อไป แม้ยีสต์จะหยุดเพิ่มจำนวนแล้วก็ตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 สับปะรด

สับปะรดจัดเป็นผลไม้เพื่อสุขภาพอีกชนิดหนึ่ง โดยประโยชน์ของสับปะรดนั้นมีอยู่หลากหลาย เพราะอุดมไปด้วยแร่ธาตุและวิตามินต่างๆ จำนวนมาก ซึ่งได้แก่ คาร์โบไฮเดรต วิตามินซี วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 3 วิตามินบี 5 วิตามินบี 6 กรดโฟลิก ธาตุแคลเซียม ธาตุโพแทสเซียม ธาตุแมกนีเซียม ธาตุแมงกานีส ธาตุฟอสฟอรัส ธาตุเหล็ก ธาตุสังกะสี เป็นต้น ซึ่งเหล่านี้ถือว่ามีประโยชน์ต่อร่างกายและสุขภาพเราเป็นอย่างมาก และสรรพคุณสับปะรดทางสมุนไพรนั้น ก็ช่วยรักษาอาการต่าง ๆ ได้อย่างหลากหลายเช่นกันเช่น โรคบิด โรคนิ่ว ช่วยบรรเทาอาการแผลเป็นหนอง ขับปัสสาวะ เป็นต้น **พบว่าน้ำสับปะรดมีกรดอินทรีย์หลักคือ กรดซิตริก อะซิตริก และมาลิก พบในช่วงร้อยละ 0.58-0.78, 0.09-0.32 และ 0.12-0.24 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ตามลำดับ โดยกรดอะซิตริกและมาลิกมีแนวโน้มลดลงเมื่อเก็บสับปะรดให้สุกทั้งผล** ส่วนในด้านปริมาณน้ำตาลหลักที่พบคือ ซูโครส, ฟรุกโทส และกลูโคสเท่ากับร้อยละ 7.55-8.72, 1.90-3.81 และ 2.30-3 ตามลำดับ (จิรภา พงษ์จันตา และคณะ, 2554).

2.4 เห็ดถั่งเช่า

เห็ดถั่งเช่าที่มีสรรพคุณอยู่ 2 ส่วน ส่วนแรกคือส่วนที่เป็นเห็ดกับอีกส่วนหนึ่งคือส่วนที่เป็นหนอนหรือถั่งเช่า และยังเป็นต้นกำเนิดของสมุนไพรเห็ดชนิดนี้อีกด้วย ซึ่งหนอนที่ให้กำเนิดถั่งเช่านั้นคือหนอนผีเสื้อที่อาศัยอยู่แถบที่ราบสูงของทิเบต โดยหนอนชนิดนี้จะได้รับหรือกินเชื้อราถั่งเช่าตอนอยู่ใต้ดิน ทำให้มีหน่อหญ้าที่เป็นส่วนผสมระหว่างหนอนและเชื้อราถั่งเช่าแตกขึ้นมา นี่จึงเป็นเหตุผลว่าทำไมถั่งเช่าถึงมีโคนเหมือนกับตัวหนอน ซึ่งตามต้นกำเนิดธรรมชาติของเห็ดถั่งเช่านั้นส่วนใหญ่จะพบได้บนที่ราบสูงของประเทศจีน เช่น มณฑลชิงไห่ รวมถึงเทือกเขาหิมาลัยของทิเบต แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากเห็ดสมุนไพรถังเช่านั้นมีสรรพคุณซึ่งเป็นประโยชน์จนเป็นที่ต้องการในปัจจุบัน จึงมีการวิจัยและเพาะปลูกกันเองภายในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ (วัชรินทร์ อ้มทองหลาง, 2564)

2.4.1 ประเภทของเห็ดสมุนไพรถั่งเช่า

ประเภทของเห็ดสมุนไพรถั่งเช่ามีหลายประเภทซึ่งหลัก ๆ แล้วสามารถแบ่งประเภทถั่งเช่าได้ 4 ประเภท ดังนี้

1. ถังเช่าทิเบต (*Cordyceps sinensis*) เห็ดถั่งเช่าประเภทนี้จะเป็นแบบต้นตำรับจากหนอนผีเสื้อบนที่ราบสูงจากทิเบตอย่างที่ได้กล่าวไปข้างต้น ซึ่งสรรพคุณของถั่งเช่าทิเบต นี้ได้รับการยอมรับมาอย่างยาวนาน แต่การเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้เห็ดสมุนไพรถั่งเช่าทิเบตนั้นค่อนข้างยุ่งยากและซับซ้อน

2. ถั่งเช่าหิมะ หรือ ถั่งเช่าเกาหลี (*Isaria tenuipes*) ในช่วง 10 กว่าปีที่ผ่านมานี้เห็ดสมุนไพรถั่งเช่าหิมะได้รับความนิยมในประเทศเกาหลีมาก โดยการเพาะเลี้ยงถั่งเช่าเกาหลีนั้นต้องพ่นเชื้อราใส่หนอนไหมในช่วงที่กำลังลอกคราบ เชื้อราดังกล่าวจะเจริญเติบโตในตัวหนอนไหม ซึ่งจะเติบโตเต็มที่ตอนที่หนอนไหมเปลี่ยนเป็นดักแด้ หลังจากนั้นผู้เพาะถั่งเช่าก็จะตัดดักแด้ออกจากรังไหม นำไปใส่ไว้ในถาดเพาะที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นอย่างดีเพื่อให้ได้ถั่งเช่าหิมะ หรืออีกชื่อก็คือถั่งเช่าเกาหลี

3. ถั่งเช่าจักจั่นหรือว่านจักจั่น (*Isaria sinclairii*) ถั่งเช่าชนิดนี้เกิดขึ้นจากจักจั่นตามชื่อที่เรียก ซึ่งภายในตัวจักจั่นนั้นมีเชื้อรา *Isaria sinclairii* ซึ่งจะทำให้ถั่งเช่าเกิดการแตกหน่อ ซึ่งความพิเศษของถั่งเช่าประเภทนี้ก็คือไม่จำเป็นต้องเพาะในห้องที่มีอากาศเย็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) เนื่องจากสรรพคุณถั่งเช่าที่มีประโยชน์มาก ทำให้เป็นที่ต้องการของคนทั่วโลก แต่ก็ไม่ใช่ทุกคนที่สามารถเพาะพันธุ์ถั่งเช่าแบบทิเบตที่เป็นต้นตำรับได้ จึงเกิดถั่งเช่าสีทอง ซึ่งเป็นเห็ดที่มาจากการเพาะในห้องที่ควบคุมสภาพแวดล้อม โดยเห็ดถั่งเช่าสีทองนี้ถือเป็นเห็ดตระกูลเดียวกับถั่งเช่าทิเบต แต่ต่างสายพันธุ์หรือสปีชีส์ สำหรับการเพาะเห็ดสมุนไพรถั่งเช่าสีทองจะต้องเพาะในที่ที่อุณหภูมิต่ำ และสามารถใช้ขวดโหลในการเพาะได้เนื่องจากสามารถเก็บความชื้นได้ดี ซึ่งเห็ดถั่งเช่ามีสรรพคุณหลายอย่างจึงเป็นที่ต้องการของตลาดและมีราคาแพง

ปัจจุบันเห็ดถั่งเช่าสามารถเพาะได้ 2 แบบ คือ การเพาะด้วยตัวหนอนและการเพาะด้วยอาหาร เนื่องด้วยทุกส่วนของถั่งเช่าสีทองสามารถนำไปใช้เป็นสารเสริมได้ รวมถึงวัสดุที่เหลือจากการเพาะเห็ดถั่งเช่าที่ไม่สามารถนำมาแปรรูปเป็นอาหารหรือยา เมื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ที่สำคัญต่อการผลิตเห็ดถั่งเช่า 1 กิโลกรัม พบว่ามีสาร cordycepin อยู่ซึ่งสารออกฤทธิ์ดังกล่าวคล้ายกับเห็ดถั่งเช่า จากงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์พบว่าถั่งเช่ามีสาร cordycepin ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการไหลเวียนของเลือดและต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคหลายชนิด สาร adenosine ช่วยต้านการแข็งตัวของเลือดและต้านการเกิดลิ่มเลือดในร่างกาย สาร cordycepic acid ช่วยเพิ่มเมแทบอลิซึมต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ และ polysaccharides ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันแก่ร่างกาย ลดคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอร์ไรด์ (ธัญญา ทะพิงค์แก, 2555) ซึ่งเห็ดชนิดนี้มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ มีการซื้อขายถั่งเช่าสีทองในประเทศไทยแบบอบแห้งอยู่ที่กิโลกรัมละประมาณ 4 หมื่นถึง 2.5 แสนบาทต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง โดยราคาขึ้นอยู่กับปริมาณสารคอร์ไดซิปิน (cordycepin) ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในเห็ดถั่งเช่า (ประภาพรรณ ซอหะซัน, 2559)

2.4.2 สารสำคัญที่พบได้ในถั่งเช่าและสรรพคุณถั่งเช่า

สารทั่วไปในถั่งเช่าเช่น อนุพันธ์โปรตีน ดีเอ็นเอ วิตามินบี 12 กรดอะมิโน 18 ชนิด ไนอาซิน สังกะสี ทองแดง แมงกานีส โครเมี่ยม และแร่ธาตุอื่นๆ กรดคอร์ไดเซปิค (cordycepic acid) ในถั่งเช่านั้นมีคุณสมบัติและสรรพคุณในการช่วยเพิ่มเมแทบอลิซึมของร่างกาย คอร์ไดเซปิน (cordycepin) พบได้ในสมุนไพรเห็ดถั่งเช่าโดยเฉพาะ มีสรรพคุณช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการไหลเวียนเลือด ต้านเชื้อแบคทีเรีย บำรุงไต รวมถึงบำรุงร่างกายขณะที่อยู่ในช่วงอ่อนแอ และสเตียรอยด์ที่พบในถั่งเช่าโดยเฉพาะคอร์ไดเซปิน สเตอรอล (cordycep sterol) จัดเป็นสเตียรอยด์ธรรมชาติไม่ใช่สเตียรอยด์สังเคราะห์ ซึ่งปกติแล้วสเตียรอยด์มีสรรพคุณลดการอักเสบ ลดอาการปวดต่างๆ ลดความเครียด รวมถึงฟื้นฟูสภาวะร่างกายที่อ่อนแอให้แข็งแรง นอกจากสารสำคัญและสรรพคุณเห็ดถั่งเช่าที่กล่าวไปข้างต้นในถั่งเช่ายังพบสารชนิดอื่นๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายอีกมากมาย ได้แก่ อะดีโนซีน (adenosine) ที่ช่วยสลายลิ่มเลือด และพอลีแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) หรือ เบต้า-กลูแคน (β-glucan) ช่วยต้านการเกิดอนุมูลอิสระ เพิ่มภูมิคุ้มกัน ลดระดับน้ำตาลในเลือด และที่สำคัญยังต้านเซลล์มะเร็งได้อีกด้วย ส่วนสารทั่วไปในถั่งเช่าเช่น โปรตีน ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) วิตามินบี 12 กรดอะมิโน 18 ชนิด ไนอาซิน สังกะสี ทองแดง แมงกานีส โครเมี่ยม และแร่ธาตุอื่น ๆ มากมาย เนื่องจากสรรพคุณของเห็ดถั่งเช่าไม่ว่าจะเป็นถั่งเช่าทิเบตแท้หรือถั่งเช่าสีทองที่มีอยู่มากมายเช่น ช่วยบำรุงร่างกาย บำรุงกำลัง เพิ่มภูมิต้านทานโรคทำให้ร่างกายสดชื่น ช่วยแก้อาการอ่อนเพลีย ช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ชะลอความแก่และความเสื่อมของเซลล์ต่างๆ ในร่างกาย ลดความดันโลหิต

สูง ลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดระดับคลอเรสเตอรอล และรักษาสมดุลของคลอเรสเตอรอลในหลอดเลือด ช่วยในด้านอารมณ์ ระงับประสาท ทำให้ผ่อนคลาย ช่วยเพิ่มความจำป้องกันโรคความจำเสื่อมในผู้สูงอายุ (จีเอ็มโอไทยแลนด์, 2560) และยังพบว่าถั่งเช่าช่วยให้ผู้ป่วยไตวายเรื้อรังมีอาการดีขึ้นมากถึงร้อยละ 51 หลังจากบริโภคถั่งเช่า 1 เดือน นอกจากนี้สรรพคุณที่เป็นที่สนใจกันมากก็คือบำรุงและเสริมสมรรถภาพทางเพศ ซึ่งได้มีรายงานวิจัยจากต่างประเทศในสัตว์ทดลองและมนุษย์มาแล้วจึงทำให้มีผู้สนใจเป็นอย่างมากจากกลุ่มที่เป็นผู้รักสุขภาพ (ปริญญา จันทร์ศรี, *ม.ป.ป.*)

2.5 เห็ดถั่งเช่าสีทอง (จิตรสุดา กุลวัฒน์, 2564)

เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps millitaris)* เป็นราแมลง (entomofungus) ในกลุ่ม *Ascomyctes* ในจีนัส *cordyceps* โดยพบในแมลงเจ้าบ้านหลายชนิด เช่น มด ผึ้ง ต่อ แตน แมงมุม เพลี้ย ด้วง แมลงปอ ผีเสื้อ และหนอน เป็นต้น ถั่งเช่าสีทองมี stroma รูปร่างคล้ายกระบองสีแดงส้ม เจริญบนตัวอ่อนหรือดักแด้ของผีเสื้อพบได้ทั่วไป สปีชีส์นี้ถูกเรียกว่า militaris เนื่องจากมี stroma ลักษณะตั้งตรงมองดูคล้ายกับท่ายืนของทหาร (Alexoplulos *et al*., 1996) เห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นเชื้อราแมลงที่สามารถรับประทานได้และไม่เป็นอันตรายกับมนุษย์ (Sung *et al*., 2007)

เห็ดถั่งเช่าสีทองมีลำดับขั้นทางอนุกรมวิธานดังนี้

อาณาจักร Fungi
ไฟลัม *Ascomycota*
คลาส *Pyrenomycetes*
ออร์เดอร์ *Hypocreales*
แฟมิลี *Clavicipitaceae*
จีนัส *Cordyceps*
สปีชีย์ *millitaris*

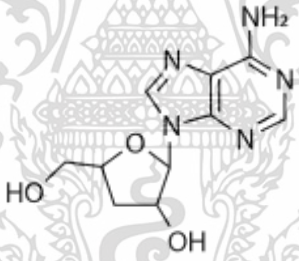
2.5.1 การเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทอง (ณัฐพงษ์ สิงห์ภูงา และคณะ, 2566)

เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารแข็งพีดีเอ (PDA) ประกอบด้วย มันฝรั่ง 200 กรัม, กลูโคส 20 กรัม, ยีสต์สกัด 5 กรัม, เปปโตน 5 กรัม และผงวุ้นบริสุทธิ์ 15 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ ค่า pH ที่ 6.5 - 7 นำไปบ่มในที่มืดอุณหภมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นทำการขยายเชื้อในอาหารเหลว โดยตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเจริญอยู่จำนวน 2 ชิ้นวุ้นวางลงในอาหารเหลวพีดีบี (PDB) ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (ส่วนผสมเช่นเดียวกับอาหาร PDA แต่ไม่ใส่ผงวุ้น) นำไปบ่มบนเครื่องเขย่า (shaker) ทีความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ในทีมืดทีอุณหภมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นเพาะเลี้ยงในอาหารข้าวเพื่อให้เกิดดอก โดยหยอดเชื้อเหลวประมาณ 2 มิลลิลิตรลงในอาหารข้าวที่ประกอบด้วยข้าวขาว 50 กรัม ดักแด้ไหม 30 กรัมและน้ำ PDB 50 มิลลิลิตร ทีผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80 - 90 ให้แสงวันละ 12 ชั่วโมง จนกระทั่ง ดอกเห็ดมีการเจริญเติบโตประมาณ 60 วัน หลังจากหยอดเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 คอร์ไดเซปิน (วัชรินทร์ อ้มทองหลาง, 2564)

สารคอร์เดเซปิน (cordycepin หรือ 3 '- deoxyadenosine) คือ สารอนุพันธ์ของอะดีโนซีนที่อยู่ในกลุ่มนิวคลีโอไซด์ (nucleosides) ที่จัดเป็นสารออกฤทธิ์ที่พบตามธรรมชาติ โดยมีสูตรโมเลกุล คือ $C_{10}H_{13}N_5O_3$ แสดงดังรูป 2.2 ซึ่งสารคอร์ไดเซปินยังมีการศึกษาวิจัยพบว่ามีฤทธิ์ในการช่วยบำรุงอวัยวะภายในร่างกาย และช่วยป้องกันการเกิดโรคต่างๆได้มากมายหลายโรค และสำหรับประเภทของคอร์ไดเซปินนั้น พบว่ามีประเภทเดียวเท่านั้น สารคอร์ไดเซปินจัดเป็นสารเฉพาะที่พบได้ในสมุนไพรถั่งเช่าเท่านั้น ซึ่งในปัจจุบันพบสารคอร์ไดเซปินได้ทั้งถั่งเช่าจากธรรมชาติ คือ ถั่งเช่าทิเบต หรือถั่งเช่าจีน สำหรับการใช้ปริมาณสารคอร์ไดเซปินตามข้อกำหนดบังคับของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) จะต้องมีปริมาณสารสำคัญคอร์ไดเซปิน (cordycepin) ไม่เกิน 0.3 มิลลิกรัมต่อกรัมของผลิตภัณฑ์ ประโยชน์ของสารคอร์ไดเซปินนั้นมีผลการศึกษาวิจัยหลายฉบับได้ระบุถึงคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาหลายด้าน เช่น ช่วยปรับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ต้านเซลล์มะเร็งและเซลล์เนื้องอก การต้านเชื้อ แบคทีเรีย ต้านอนุมูลอิสระ ลดระดับน้ำตาลในเลือด เพิ่มอัตราการปฏิสนธิ ลดไขมันในเลือด ลดการสร้างเม็ดสีเมลานิน มีฤทธิ์ลดการอักเสบ (anti-inflammatory) มีคุณสมบัติบำรุงไตและปอด และพบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารต้านมะเร็ง โดยที่สารคอร์ไดเซปินจะเข้าไป ทำลายการถอดรหัสลำดับเบสของ DNA เป็น mRNA ไม่สามารถสร้างโปรตีนที่เป็นอาหารของเซลล์มะเร็งได้ ดังนั้นจึงทำให้เซลล์มะเร็งเจริญเติบโตช้าหรือหยุดการเจริญเติบโต (ดิสไทย, *ม.ป.ป.*)

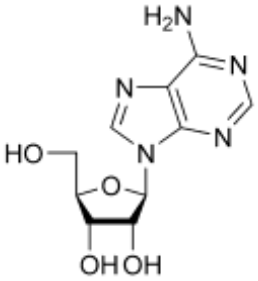


รูปที่ 2.2 : โครงสร้างทางเคมีของคอร์ไดเซปิน
ที่มา : https://www.disthai.com

2.5.3 อะดีโนซีน (วัชรินทร์ อุ้มทองหลาง, 2564)

อะดีโนซีนเป็นนิวคลีโอไซด์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในทุกเซลล์ของร่างกาย ในทางเคมีคือ 6-amino-9-beta-D-ribofuranosyl-9-H-purine แสดงดังรูป 2.3 อะดีโนซีนประกอบด้วยอะดีนีนที่ติดอยู่กับโมเลกุลน้ำตาลไรโบส (ไรโบฟูราโนส) พันธะที่ยึดติดกับอะดีนีนและน้ำตาลไรโบสเรียกว่าพันธะ β-N9 - glycosidic ระดับอะดีโนซีนในพลาสมาปกติอยู่ระหว่าง 0.04 ถึง 0.2 ไมโครโมล อะดีโนซีนในถั่งเช่าเป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญอีกตัวหนึ่งที่รองจากสารคอร์เดเซปินใน เห็ดตระกูลถั่งเช่าซึ่งมีคุณสมบัติกระตุ้นการจับออกซิเจนในกระแสเลือด ช่วยเรื่องระบบหายใจ โรคหอบหืด และภูมิแพ้ รวมถึงอะดีโนซีนยังช่วยในการสลายลิ่มเลือด ไม่ให้เกิดการแข็งตัว เพิ่มการไหลเวียนของโลหิตให้ดีขึ้น และควบคุมการเต้นของหัวใจให้ทำงานเป็นปกติ (ธัญญา ทะพิงค์แก, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 : โครงสร้างทางเคมีของอะดีโนซีน

ที่มา : https://www.chemipan.com

2.5.4 พอลิแซ็กคาไรด์ (วิจิตรา แดงปรก, 2564)

พอลิแซ็กคาไรด์คือสารประกอบคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน มีงานวิจัยจำนวนมากที่พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากเห็ดชนิดต่างๆ มีกิจกรรมทางชีวภาพในร่างกาย ทำให้มีการใช้พอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดถั่งเช่าใช้เป็นยาสมุนไพรมาเป็นเวลายาวนาน มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้แก่ จับกับอนุมูลอิสระ สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดถั่งเช่าสีทองมีความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระที่ดีได้แก่อนุมูล 1,1-diphenyl-2-picrylhyrazyl (DPPH) อนุมูลไฮดรอกซิล อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์และอนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการจับกับโลหะพวกเฟอรัสและรีดิวซ์เฟอริกได้ด้วย ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส และเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (Chen *et al*., 2006; Li *et al*., 2003) ปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์สกัดจากเห็ด ได้แก่ องค์ประกอบและโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ พอลิแซ็กคาไรด์จะประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งชนิดน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีตามธรรมชาติของเห็ดแต่ละชนิดจะมีผลต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ด (Mingyi *et al*., 2019)

2.5.5 สารประกอบพอลิฟีนอล (วิจิตรา แดงปรก, 2564)

ชนิดของกรดฟีนอลิกที่พบในเห็ดถั่งเช่าสีทอง ได้แก่ กรด *p*-hydroxybenzoic acid

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อำพรรณ ชัยกุลเสรีวัฒน์ และสุนันทิดา สิงหพล (2559 : 165-169) ได้ศึกษาการผลิตไวน์สับปะรดผสมแครอท เริ่มจากการศึกษาอัตราส่วนของน้ำสับปะรดต่อน้ำที่อัตราส่วน 1:1, 1:3 และ 1:5 (โดยปริมาตร) พบว่าอัตราส่วน 1:1 มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดเท่ากับร้อยละ 15.40 ± 0.20 (โดยปริมาตร) ในวันที่ 20 ของการหมัก จากนั้นทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าไวน์ทั้ง 3 อัตราส่วน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อศึกษาอัตราส่วนน้ำแครอทต่อน้ำ 1:3, 1:5 และ 1:7 (โดยปริมาตร) พบว่าที่อัตราส่วน 1:3 มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดเท่ากับร้อยละ 12.30 ± 0.30 (โดยปริมาตร) ในวันที่ 20 ของการหมัก และไม่พบว่าไวน์ทั้ง 3 อัตราส่วนแตกต่างกันเมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัส เมื่อศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำสับปะรดคั้นต่อน้ำ (1:1) และน้ำแครอทคั้นต่อน้ำ (1:3) ต่อการหมักไวน์ ใช้อัตราส่วน 2:1, 1:1 และ 1:2 (โดยปริมาตร) พบว่าไวน์ที่ใช้อัตราส่วน 2:1 มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด เท่ากับร้อยละ 13.70 ± 0.30 (โดยปริมาตร) ในวันที่ 20 ของการหมัก พบว่าทั้ง 3 อัตราส่วน มีคะแนนด้านกลิ่นและความชอบโดยรวมไม่แตกต่างทางสถิติ ส่วนลักษณะปรากฏ รสชาติ และสิ่งตกค้างในปาก พบว่าอัตราส่วน 2:1 ได้รับคะแนนการยอมรับสูงที่สุด ($P \leq 0.05$)

กนกวรรณ ทองแม้น, ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา และภาวินี ดีแท้ (2557) ได้ศึกษาการลดความเปรี้ยวของไวน์สับปะรดด้วยแบคทีเรียกรดแล็กติกสายพันธุ์ทางการค้าและออโตโคนัสไอโซเลท โดยหมักน้ำสับปะรดสดครบส่วนที่หมักด้วยออโตโคนัสยีสต์ *Hanseniaspora psuedoguilliermondii* และ *Saccharomycodes ludwigii* ที่แยกได้จากน้ำสับปะรดหมักธรรมชาติ แล้วจึงลดความเปรี้ยวของไวน์โดยการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแล็กติก (LAB) สายพันธุ์ทางการค้าและออโตโคนัสไอโซเลททั้งในรูปแบบกล้าเชื้อเดี่ยว ได้แก่ *Oenococcus oeni* Enoferm® ALPHA, *Lactobacillus brevis* และ *L. Plantarum* และกล้าเชื้อผสมระหว่าง *O. oeni* Enoferm® ALPHA กับ *L. brevis* และ *O. oeni* Enoferm® ALPHA กับ *L. plantarum* โดยไวน์มีค่าเริ่มต้น คือค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 3.67 ± 0.01, ปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 11.5 ± 0.28 (ปริมาตร/ปริมาตร), ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TTA) ร้อยละ 0.39 ± 0.00 (น้ำหนัก/ปริมาตร) และน้ำตาลรีดิวซ์ (RS) 18.25 ± 1.37 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อลดความเปรี้ยวของไวน์โดยหมักด้วย LAB ที่อุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณกรดในการหมักทุกรูปแบบลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ยกเว้น *O. oeni* Enoferm® ALPHA และค่า pH ของไวน์ที่หมักด้วย *O. oeni* Enoferm® ALPHA มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ pH ของไวน์ที่หมักด้วย LAB รูปแบบอื่นมีค่าไม่แตกต่างจากไวน์เริ่มต้น แต่พบว่าไวน์ที่หมักด้วย *L.brevis* มีค่า pH สูงกว่าไวน์ทั้งก่อนและหลังการลดความเปรี้ยวด้วย LAB ทุกรูปแบบอย่างมีนัยสำคัญ และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของไวน์ที่ผ่านการลดความเปรี้ยวทุกรูปแบบมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

ศักดิ์สิทธิ์ และไพบูลย์ (2547) รายงานว่าไวน์ผลไม้ส่วนใหญ่มีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 10-17 (ปริมาตร/ปริมาตร) ในขณะที่ไวน์ผลไม้มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช.2/2546 ได้กำหนดคุณลักษณะทางเคมีของไวน์ผลไม้ให้มีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่เกินร้อยละ 15 (ปริมาตร/ปริมาตร) ในขณะที่ไวน์ซึ่งผลิตจากองุ่นโดยทั่วไปจะมีแอลกอฮอล์อยู่ระหว่างร้อยละ 8-16 (ปริมาตร/ปริมาตร)

ปฐมพงษ์ และราตรี (2557) ศึกษาปริมาณเอทานอลในไวน์ 5 ชนิด ได้แก่ ไวน์ส้มเขียวหวาน ไวน์ มะละกอ ไวน์สับปะรด ไวน์กล้วยหอม และไวน์แตงโม โดยกระบวนการหมักผลไม้ทั้ง 5 ชนิดด้วยยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* บ่มเป็นเวลา 20 วัน ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไวน์จากผลไม้ทั้ง 5 ชนิดไปวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลด้วยเครื่อง ebulliometer ผลการวิจัยพบว่าปริมาณเอทานอลในไวน์กล้วยหอมมีปริมาณมากที่สุดร้อยละ 10.20 รองลงมาคือ มะละกอ แตงโม สับปะรด มีปริมาณเอทานอลร้อยละ 8.25, 8.50 และ 8.77 ตามลำดับ ในขณะที่ไวน์ส้มเขียวหวานมีปริมาณเอทานอลน้อยที่สุดร้อยละ 8.15

Liu *et al*., 2016 ได้ทำการทดลองหนูทั้ง 4 กลุ่มได้รับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่งเช่าสีทองปริมาณ 0 (ตัวควบคุม), 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมหนูต่อวัน ดูผลการทดลองหลังจากผ่านไป 30 วัน โดยการตรวจดูเม็ดเลือดขาว ระดับภูมิคุ้มกัน และปัจจัยชีวเคมี ผลการทดลองคือ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่งเช่าสีทองช่วยส่งเสริมระดับภูมิคุ้มกันของหนูอย่างมีนัยสำคัญ

Sun *et al*., 2014 ได้ทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่งเช่าสีทองเพื่อดูกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งเซลล์มะเร็ง การยับยั้งการอักเสบ และการลดน้ำตาล โดยทำการศึกษาทางคลินิก โดยใช้

ผงถั่งเช่าสีทองบดในการทดสอบระบบภูมิคุ้มกันของมนุษย์ที่ 3 ระดับได้แก่ 0.5, 1.5และ 3 กรัม โดยการทดลองพบว่าทั้ง 3 ระดับมีอิทธิพลต่อการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน ได้แก่ ปริมาณ 0.5 และ 1.5 กรัม จะลดการแสดงออกของ GRO ปริมาณ 1.5 กรัม จะมีผลต่อการเกิด TNFs ส่วนการต้านการอักเสบและ apoptosis จะมากขึ้นตามปริมาณของถั่งเช่าสีทอง จึงสรุปผลได้ว่าการใช้ถั่งเช่าปริมาณทั้ง 3 ระดับ ก็มีผลต่อการรักษาและเป็นประโยชน์ต่อระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 จมูกข้าวไรซ์เบอร์รี่

3.1.1.2 ไข่ไก่

3.1.1.3 หนอนไหม

3.1.1.4 มันฝรั่ง

3.1.1.5 ข้าวโพดอ่อน

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.2.1 *Cordyceps militaris*

3.1.2.2 *Saccharomyces cerevisiae*

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.3.1 Potato Dextrose Agar เสริมไข่ไก่

3.1.3.2 Potato Dextrose Broth เสริมไข่ไก่

3.1.3.4 Nutrient Agar (NA)

3.1.3.5 Nutrient Broth (NB)

3.1.4 อุปกรณ์ และเครื่องมือ

3.1.4.1 ตู้ปลอดเชื้อ

3.1.4.2 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

3.1.4.3 Spectroprotometer

3.1.4.4 ฟลาสก์ ขนาด 250 มล. และ 2 ลิตร

3.1.4.5 จานเพาะเลี้ยง

3.1.4.6 บีกเกอร์ ขนาด 100, 250 และ 500 มล.

3.1.4.7 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.4.8 เข็มเขี่ยเชื้อ

3.1.4.9 กระบอกตวง

3.1.4.10 ช้อนตักสาร

3.1.4.11 เตาแก๊ส

3.1.4.12 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave)

3.1.4.13 เครื่องชั่งสาร

3.1.4.15 ขวดแก้วสำหรับเพาะเลี้ยง 16 ออนซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4.16 สำลี

3.1.4.17 ผ้าขาวบาง

3.1.4.18 อิบูลลิโอมิเตอร์ (ebulliometer)

3.1.4.19 เครื่องวัดความหวาน (refractometer)

3.1.4.20 มีด

3.1.4.21 หม้อ

3.1.4.22 เขียง

3.1.4.23 ตู้เย็น

3.1.4.24 pH meter

3.1.4.25 ขวดไวน์

3.1.5 สารเคมี

3.1.5.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 Nยจะได้

3.1.5.2 เปปโตน (peptone)

3.1.5.3 กลูโคส

3.1.5.4 ผงวุ้น (agar)

3.1.5.5 น้ำบริสุทธิ์ (ultrapure)

3.1.5.6 เอทานอลร้อยละ 95

3.1.5.7 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

3.1.5.8 โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์

3.1.5.9 กรดซิตริกความเข้มข้นร้อยละ 10

3.1.5.10 ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (DAP) ร้อยละ 0.10

3.1.5.11 สารละลายแอนโทรน

3.1.5.12 ฟีนอล์ฟทาลีน

3.2 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3.2.1 การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยหนอนในขวดแก้ว

เริ่มต้นจากการเพาะเลี้ยงเส้นใยในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีหนอนไหม จนเกิดเป็นดอกเห็ด (ตันติกร เติมแก้ว, 2563)

3.2.2 การเตรียมหัวเชื้อในอาหาร PDA เสริม

นำดอกเห็ดที่ได้มาทำการฆ่าเชื้อด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วอีก 2 ครั้ง จากนั้นตัดเป็นชิ้นๆ ความยาวประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร นำชิ้นส่วนที่ตัดแล้วไปวางบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA ซึ่งมีส่วนประกอบเป็นกรัมต่อลิตร ดังนี้ คือ มันฝรั่ง 200 ข้าวโพดอ่อน 50 กลูโคส 20 ไข่ไก่ 20 และผงวุ้น 20 จากนั้นนำไปบ่มในที่มืด ที่อุณหภูมิ 18-20 องศาเซลซียส เป็นเวลา 14 วัน (ตันติกร เติมแก้ว, 2563)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 การเตรียมหัวเชื้อในอาหารเหลว PDB

นำหัวเชื้อเริ่มต้นจากอาหารแข็ง PDA เสริม มาค็อกจำนวน 3 ชิ้น นำไปใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว PDB ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ซึ่งมีส่วนประกอบเป็นกรัมต่อลิตร ดังนี้คือ มันฝรั่ง 200 ข้าวโพดอ่อน 50 กลูโคส 20 และไข่ไก่ 20 จากนั้นนำไปเลี้ยงในที่มืดในเครื่องบ่มแบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน (ตันติกร เติมแก้ว, 2563)

3.2.4 การถ่ายหัวเชื้อลงในอาหารเหลว PDB เสริมในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอน

ทำการถ่ายหัวเชื้อในอาหารเหลว PDB เสริม ในหัวข้อ 4.1.3 ร้อยละ 5 ลงไปตรงกลางขวดอาหารแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอน จากนั้นนำไปบ่มในที่มืดโดยใช้ผ้าดำคลุมที่ขวดเพาะเลี้ยงอีกทีที่อุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 14 วัน เส้นใยจะเจริญเต็มขวดเพาะเลี้ยง (เส้นใยมีสีขาว) จากนั้นทำการเปิดดอกโดยให้แสงกับเส้นใย รอจนเกิดเป็นดอกเห็ดมีความสูงประมาณ 1 เซนติเมตร จากนั้นทำการฉีดฮอร์โมนและนำไปเลี้ยงต่อจนครบเวลาประมาณ 45 – 60 วัน นับตั้งแต่วันที่ทำการเปิดดอก โดยสูตรอาหารแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอน มีส่วนประกอบเป็นกรัมต่อลิตร ดังนี้คือ มันฝรั่ง 200 ข้าวโพดอ่อน 50 กลูโคส 20 ไข่ไก่ 20 หนอนไหม 30 และจมูกข้าวไรซ์เบอรี่ 40 กรัมต่อขวดเพาะเลี้ยง (ตันติกร เติมแก้ว, 2563)

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณคอร์ไดเซปิน, อะดีโนซีนและพอลิแซ็กคาไรด์ในเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC)

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์

นำดอกเห็ดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาตัดเอาเฉพาะส่วนที่เป็นดอกเห็ดไปชั่งเพื่อหาน้ำหนักก่อนอบ แล้วนำไปอบในเครื่องอบความร้อน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะมีความชื้นร้อยละ 10 จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักหลังอบ คำนวณหาร้อยละ ความชื้น อัตราผลผลิตมวลชีวภาพแห้งต่อโหล และจากนั้นนำมาบดโดยใช้เครื่องปั่นให้เป็นผงละเอียด นำมาร่อนผ่าน sieve ขนาด 200 เมท ถ้าขนาดอนุภาคยังมีขนาดใหญ่ก็นำไปปั่นซ้ำอีกครั้งจนมีขนาดเล็กผ่านตะแกรงร่อนได้หมด (Li *et al*., 2015)

3.3.2 ขั้นตอนการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเห็ดถั่งเช่าสีทอง

การสกัดโดยใช้น้ำบริสุทธิ์สูงเป็นตัวทำละลายในอัตราส่วน 0.1:1 (ดอกเห็ดถั่งเช่าสีทอง : น้ำบริสุทธิ์สูง) ชั่งดอกเห็ดถั่งเช่า จำนวน 0.1 กรัม เติมน้ำบริสุทธิ์สูงจำนวน 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่าคลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasonic sonicator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำสารสกัดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แยกตะกอนกับส่วนใส จากนั้นนำส่วนใสไปกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมครอน ใส่ลงในขวดเก็บสารละลาย (vial) ขนาด 2 มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปฉีดหาคอร์ไดเซปิน และอะดีโนซีนด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (ดัดแปลงจาก Li *et al*., 2015)

3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ไดเซปิน และอะดีโนซีนในเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารตัวอย่างและสารมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้นด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ C18 (ขนาด 3.5 ไมโครเมตร x 250 มิลลิเมตร x 4.6 มิลลิเมตร) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ที่อุณหภูมิคอลัมน์ 40 องศาเซลเซียส ฉีดตัวอย่างเข้าคอสัมน์ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร โดยใช้เมทานอลต่อน้ำบริสุทธิ์สูงใน อัตราส่วน 15:85 (ปริมาตร/ปริมาตร) เป็นเฟสเคลื่อนที่ (ดัดแปลงจาก Li *et al*., 2015) และวิเคราะห์ปริมาณสารตัวอย่างจากพื้นที่ใต้กราฟ โดยการนำค่าพื้นที่ได้กราฟของสารตัวอย่างที่วัดได้แทนในสมการเส้นตรง คือ Y = mx+c ของสารตัวอย่างมาตรฐาน โดยกำหนด Y คือ ค่าที่วัดได้จากพื้นที่ใต้กราฟ และ X คือ ค่าปริมาณสารตัวอย่าง

3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ในเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3.3.4.1 ขั้นตอนการสกัด

ชั่งตัวอย่างเห็ดที่ได้จากขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างข้อที่ 3.3.1 มา 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (vortex) แล้วใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พอครบเวลานำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 40 นาที นำส่วนใสที่ได้มาตกตะกอนโดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 4 เท่าของปริมาตรตัวอย่าง ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ดัดแปลง จาก Li *et al*., 2016) หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 40 นาที เทส่วนใสทิ้งนำตะกอนที่ได้เป่าด้วยไนโตรเจนอย่างเบาจนแห้ง แล้วนำไปอบต่อที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที (จนกว่าตะกอนจะแห้ง) แล้วนำไปชั่งน้ำหนักตะกอนที่ได้

3.3.4.2 การวิเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีแอนโทรน

นำตะกอนที่ได้จากขั้นตอน 3.3.4.1 ไปวิเคราะห์ตามวิธีดังภาคผนวก ข

3.4 การศึกษาการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของโพแทสเมตาไบซัลไฟต์ที่เหมาะสมในน้ำสับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3.4.1 การเตรียมน้ำสับปะรด

โดยนำผลสับปะรดสายพันธุ์ปัตตาเวียมาปอกเปลือกและล้างให้สะอาด แยกกากและน้ำสับปะรดโดยใช้เครื่องคั้นน้ำผลไม้แยกกากแล้วกรองด้วยผ้าขาวบางสะอาดอีกครั้งอีกครั้ง เอาเฉพาะน้ำสับปะรด เก็บใส่ขวดที่สะอาด นำไปแช่แข็ง (ณัฐพงษ์ และรัตนะ, 2566)

3.4.2 การเตรียมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง

นำเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านการอบแห้งที่เตรียมไว้แล้วแช่ในน้ำร้อนอุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที จากนั้นกรองเอาเฉพาะน้ำส่วนที่เป็นน้ำด้วยผ้าขาวบางที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จะได้น้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง (ณัฐพงษ์ และรัตนะ, 2566)

3.4.3 การเตรียมน้ำหมักเพื่อทดสอบหาปริมาณโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ที่เหมาะสมที่เหมาะสมต่อการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำสับปะรดผสมน้ำสกัดจากถั่งเช่าสีทอง

นำน้ำสับปะรดที่เตรียมจากข้อ 3.4.1 นำมาผสมกับน้ำสกัดถั่งเช่าสีทองที่เตรียมจากข้อ 3.4.2 โดยที่น้ำวัตถุดิบมีความเข้มข้นของเห็ดถั่งเช่าที่ 80 กรัมต่อลิตร นำน้ำวัตถุดิบที่ได้ใส่ฟลาสก์ขนาด 100 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำตัวอย่างมา pour plate หาเชื้อเริ่มต้น และทำการแปรผันโพแทสเซียมเม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาไบซัลไฟต์ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150, 200 และ 250 ส่วนในล้านส่วน หลังจากบ่ม KMS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงทำการเก็บตัวอย่างวัตถุดิบเพื่อนำไปทำการทดลองด้วยวิธี pour plate จำนวน 3 ซ้ำ

3.4.4 การตรวจนับจำนวนปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด

หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหาร plate count agar ด้วยวิธี pour plate เก็บตัวอย่างน้ำสับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ชั่วโมงที่ 0, 24 และ 48 โดยการนำตัวอย่างน้ำสับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดที่มี 0.1 เปอร์เซ็นต์ peptone water ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic Techniques) เขย่าให้เข้ากัน แล้วทำการเจือจางตัวอย่างโดยการปิเปต 1 มิลลิลิตร ของตัวอย่างลงใน 0.1 เปอร์เซ็นต์ peptone water ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เจือจางตัวอย่างที 10^{-2} เท่า ถึง 10^{-5} ดูดตัวอย่างที่ระดับการเจือจางต่างๆ จำนวน 1 มิลลิลิตร ปิเปตลงในจานเพาะเชื้อระดับความเจือจางละ 3 จานเพาะเชื้อ (ทำ 3 ซ้ำ) แล้วเทอาหารแข็ง PCA ประมาณ 15 มิลลิลิตร ลงในแต่ละจานเพาะเชื้อผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ให้วุ้นแข็ง จากนั้นนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ถ้าไม่มีการเจริญของเชื้อให้บ่มต่ออีก 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่เจริญต่อมิลลิลิตรในจานเพาะเชื้อ (ตันติกร เติมแก้ว, 2563)

3.5 ขั้นตอนกระบวนการหมักไวน์สับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3.5.1 การเตรียมน้ำสับปะรดคั้นและน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง จากข้อ 3.4.1 และ 3.4.2 ตามลำดับ

3.5.2 การเตรียมหัวเชื้อ

ทำการชั่งกล้าเชื้อยีสต์ชนิดผง *Saccharomyces cerevisiae* ยี่ห้อ LALVIN สายพันธุ์ทางการค้า EC-1118 ในการหมัก เตรียมน้ำที่อุณหภูมิห้อง ผสมให้เข้ากันในอัตราส่วน 1 : 10 หรือ กล้าเชื้อยีสต์ผง 1 กรัม ต่อน้ำปริมาตร 10 มิลลิลิตรและตั้งทิ้งไว้ 15-20 นาที (ตามบริษัทผู้ผลิตกำหนด)

3.5.3 การหมักน้ำสับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ในแต่ละสูตรการทดลองทำการเตรียมน้ำหมักปริมาณ 1 ลิตร ที่อัตราส่วนน้ำสับปะรดต่อน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ 1:1 โดยแปรผันความเข้มข้นของสารสกัดถั่งเช่าสีทองในน้ำสับปะรดให้มีความเข้มข้นของเห็ดถั่งเช่าที่ 60 , 80 และ 100 กรัมต่อลิตร จำนวน 3 สูตรการทดลอง และมีสูตรที่เติมน้ำสะอาดแทนน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองและเติมน้ำสะอาดแทนน้ำสับปะรดเป็นชุดควบคุม โดยมีการปรับค่าความเข้มข้นของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solid: TSS) ให้เท่ากับ 22 องศาบริกซ์ ด้วยน้ำตาลซูโครส ปรับค่า pH ให้เท่ากับ 4.0 (ประวีณา *et al*., 2554) จากนั้นเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 150 ส่วนในล้านส่วน ทิ้งไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง (ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2546) แล้วบรรจุลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 1000 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นเติมสารไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (DAP) ร้อยละ 0.10 หรือเติมสารไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 1 กรัม ต่อปริมาตรน้ำหมัก 1000 มิลลิลิตร ลงในน้ำหมักแต่ละสูตรเพื่อใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน เติมกล้าเชื้อยีสต์ที่เตรียมไว้ จากนั้นปล่อยให้เกิดการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน เก็บตัวอย่างน้ำสับปะรดทุกๆ 3 วัน เพื่อนำมาทำการวิเคราะห์ผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ชุดการทดลองสำหรับศึกษาอัตราส่วนของน้ำสับปะรดและน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง

สูตรการทดลอง	อัตราส่วนน้ำสับปะรดต่อน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง	น้ำสับปะรด (มิลลิลิตร)	น้ำสกัดเห็ดถั่งเช่า (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง (กรัม/ลิตร)
1	1:0	700	0	0
2	1:1	350	350	60
3	1:1	350	350	80
4	1:1	350	350	100
5	0:1	0	700	60

3.5.4 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี

3.6.5.4.1 ปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดซิตริก)

การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก ด้วยวิธีไตเตรท โดยวิธี AOAC

3.5.4.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

วิเคราะห์ปริมาณความเป็นกรด-ด่างโดยใช้ pH meter

3.5.4.3 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (total soluble solid, TSS)

วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้โดยใช้ hand refractometer

3.5.4.4 ปริมาณแอลกอฮอล์

วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใชเครื่อง ebulliometr

3.5.5 การบ่มไวน์

ยุติการหมักไวน์สับปะรดจากข้อ 3.6.4 หลังจากทำการหมักเป็นเวลา 15 วัน โดยนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 8-10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองแยกส่วนใส เติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ที่ 150 ส่วนในล้านส่วน แบ่งใส่ฟลาสขนาด 1000 มิลลิลิตร 2 ฟลาสเท่าๆกัน บ่มที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน และ 30 วัน (ณัฐพงษ์ และรัตนะ, 2566)

3.5.6 การฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ก่อนบรรจุ

นำผลิตภัณฑ์ไวน์ที่ได้มากรองอีกครั้งก่อนนำต้มเชื้อที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เสร็จแล้วทำให้เย็นทันที และบรรจุลงในขวดแก้วที่ทำการต้มฆ่าเชื้อผ่านความร้อนแล้วและปิดฝาให้สนิทและเก็บเข้าตู้เย็น (ณัฐพงษ์ และรัตนะ, 2566)

3.6 การทดสอบการยอมรับทางสัมผัสทางด้านลักษณะปรากฏ

ประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสโดยการทดสอบความชอบ โดยใช้วิธีการให้คะแนนความชอบ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คะแนน (5-Point hedonic scales) (5 คะแนน = ชอบมากที่สุด และ 1 คะแนน = ไม่ชอบมากที่สุด) (Meilgaard et al., 2006) และ Just About Right (JAR) Scales (ASTM MNL63) โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ทดสอบในเรื่อง สี ความใส กลิน รสชาติ และความชอบโดยรวม

3.6.1 สี มีสีที่เป็นไปตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ โดยการรินไวน์ 1 ใน 3 ส่วน ของแก้ว แล้วยกแก้วดูแสงเพื่อส่องดูแสง Daylight หรือแสงสว่างแบบดวงอาทิตย์ เพื่อดูความเข้มข้นของสี

3.6.2 ความใส มีความขุ่นความใสของสีไวน์มากน้อยเพียงใด มีตะกอนขุ่นลอยหรือไม่

3.6.3 กลิ่น มีกลิ่นหอมของผลไม้ที่นำมาผลิตไวน์ และไม่มีกลิ่นอื่นๆที่ไม่พึงประสงค์ โดยทำการแกว่งแก้วเบาๆ 3-4 ครั้ง เพื่อให้กลิ่นไวน์ฟุ้งกระจายสัมผัสกับอากาศและอบอวลอยู่ในแก้ว แล้วลดจมูกลงไปในแก้ว

3.6.4 ความชอบโดยรวม ประเมินความชอบโดยรวมของไวน์แต่ละตัวอย่าง ทั้งกลิ่น สี รสชาติ และความใส

3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Minitap และใช้แผนการทดลองแบบ CRD (complete randomized design) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี TUKET'S METHOD โดยประกอบด้วย 1 ปัจจัย คือ แปรผันปริมาณโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ และ 2 ปัจจัย คือ ระยะเวลาในการหมักไวน์กับปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปของกรดซิตริก), ระยะเวลาในการหมักไวน์กับค่าพีเอช (pH), ระยะเวลาในการหมักไวน์กับปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (องศาบริกซ์), ระยะเวลาในการหมักไวน์กับปริมาณร้อยละแอลกอฮอลล์, ระยะเวลาในการบ่มไวน์กับความชอบทางด้านสี, ระยะเวลาในการบ่มไวน์กับความชอบทางด้านความใส, ระยะเวลาในการบ่มไวน์กับความชอบทางด้านกลิ่น, ระยะเวลาในการบ่มไวน์กับความชอบทางด้านรส และระยะเวลาในการบ่มไวน์กับความชอบทางด้านความชอบโดยรวม ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยค่า $p \leq 0.05$ (ตันติกร เติมแก้ว, 2563)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการเพาะเลี้ยงเห็ด

จากการศึกษาระยะการเจริญเติบโตของหัวเชื้อเริ่มต้นและลักษณะเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA ดังแสดงในรูปที่ 4.2.1 พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในที่มืดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าลักษณะของเส้นใยมีสีขาวแผ่กระจายเป็นวงกลมคล้ายสำลีล้อมรอบชิ้นส่วนของหัวเชื้อเริ่มต้นเห็ดถั่งเช่าสีทอง

รูปที่ 4.1 ลักษณะเส้นใยของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญบนอาหารแข็ง PDA

การศึกษาระยะการเจริญเติบโตของหัวเชื้อเริ่มต้นในอาหารเหลว PDB เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการเพาะเลี้ยงในที่มืดอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บนเครื่องบ่มแบบเขย่า ที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที ดังแสดงในรูปที่ 4.2.2 พบว่าอาหารเหลว PDB มีลักษณะของเส้นใยเกิดขึ้นสังเกตุได้จากบริเวณรอยต่อของน้ำอาหารมีลักษณะขุ่นขึ้นเล็กน้อย

รูปที่ 4.2 ลักษณะเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญในอาหารเหลว PDB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาระยะการเจริญเติบโตของหัวเชื้อเริ่มต้นเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่ ทำการเพาะเลี้ยงในที่มืดอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ดังแสดงในรูปที่ 4.2.3 พบว่า มีเส้นใยสีขาวของเห็ดถั่งเช่าสีทองเจริญเติบโตปกคลุมอย่างหนาแน่นบนจมูกข้าวไรซ์เบอรี่

รูปที่ 4.3 ลักษณะเส้นใยเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อผลิตดอกในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่

พบว่าเมื่อนำมาเปิดดอก ในที่มีแสงสว่างอุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน เส้นใยจะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีส้มทอง จากนั้นเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลาประมาณ 14 วันจะมีตุ่มดอกเล็กๆ แทงขึ้นมา และเมื่อครบเวลาประมาณ 60 วัน เห็ดถั่งเช่าสีทองจะมีการเจริญเติบโตเต็มที่ ดอกของเห็ดถั่งเช่าสีทองจะมีลักษณะสูงยาวเป็นทรงกระบอกกลม อวบ และมีสีส้มทอง ดังแสดงในรูปที่ 4.4

รูปที่ 4.4 ลักษณะของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว PDB เสริมในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่ เป็นระยะเวลา 60 วัน

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ห้ามนำไปใช้ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีน

จากการศึกษาปริมาณคอร์ไดเซปินและอะดีโนซีนในเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยการนำสารสกัดที่ได้จากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเครื่องโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถภาพสูง พบว่าสารคอร์ไดเซปินใน Retention time (RT) ที่เวลา 11-12 นาที มีปริมาณสารคอร์ไดเซปินเท่ากับ 3.64 ± 0.0971 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และพบว่าสารอะดีโนซีนใน Retention time (RT) ที่เวลา 8-9 นาที มีปริมาณสารอะดีโนซีนเท่ากับ 2.10 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์

จากการศึกษาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ในเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่ามีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์เท่ากับ 16.97 ± 0.95 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

4.4 ผลการศึกษาปริมาณของโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในน้ำสับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ตารางที่ 4.1 ผลการศึกษาปริมาณของโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ที่เหมาะสมในน้ำสับปะรดที่เสริมด้วยน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองจากการ pour plate

ปริมาณ KMS (ส่วนในล้านส่วน)	โคโลนีก่อนใส่ KMS (โคโลนี/มล.)	โคโลนีหลังใส่ KMS (โคโลนี/มล.)
50	3.33×10^5	$25.00^a \pm 2.00$
100	3.33×10^5	$20.22^b \pm 1.35$
150	3.33×10^5	$5.56^a \pm 1.92$
200	3.33×10^5	$3.89^a \pm 0.96$
250	3.33×10^5	$2.94^a \pm 0.82$

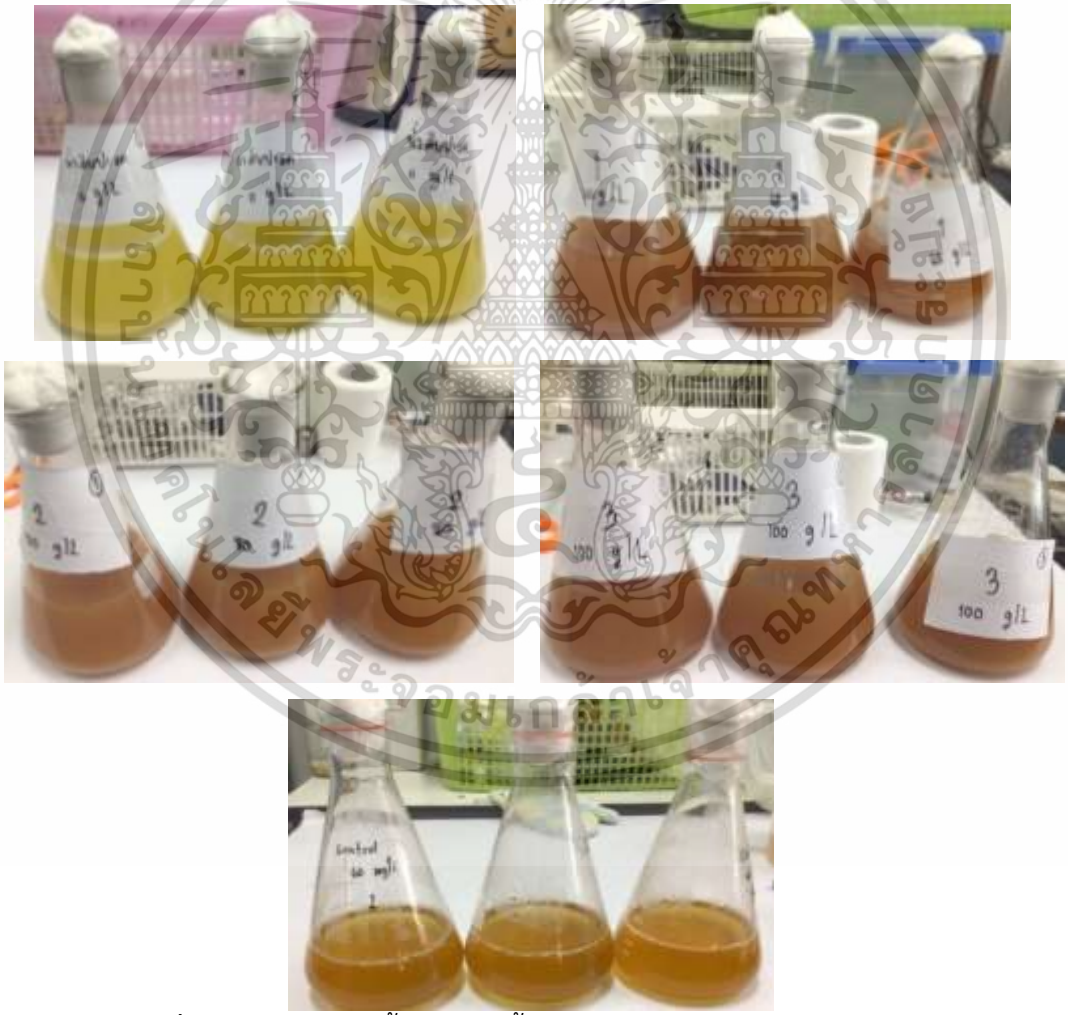
หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์และแถว ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P > 0.05$)

จากผลการทดลองดังตารางที่ 4.00 จะเห็นได้ว่าหลังใส่โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ที่ปริมาณ 150 ส่วนในล้านส่วน จำนวนโคโลนีลดลงมากที่สุด เหลือจำนวนโคโลนีเท่ากับ 5.56 โคโลนีต่อมิลลิลิตร แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับที่ปริมาณ 200 และ 250 ส่วนในล้านส่วน เป็นผลมาจากการที่โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) เป็นสารยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น โดยจะไปสลายปริมาณออกซิเจนในน้ำหมักทำให้เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถใช้ออกซิเจนได้ เป็นไปตามโครงงานวิจัยของ (ณัฐพงษ์ และรัตนะ, 2564) ที่มีการใช้โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักที่ความเข้มข้น 150 ส่วนในล้านส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 น้ำหมักไวน์สับปะรดที่เสริมด้วยน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง

รูปที่ 4.5 น้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง



รูปที่ 4.6 ลักษณะของน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 ตัวอย่าง ในกระบวนการหมักไวน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์ทั้ง 5 สูตร ในระยะเวลา 15 วัน

ตารางที่ 4.2 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด (ซิตริก) ของไวน์ทั้ง 5 สูตรในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15

ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละของซิตริก) ของการหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15						
สูตร	เวลา (วัน)					
	0	3	6	9	12	15
1	$0.82^{l} \pm 0.05$	$1.69^{H,I,J,K} \pm 0.00$	$1.51^{I,J,K} \pm 0.08$	$1.48^{J,K} \pm 0.07$	$1.61^{i,j,k} \pm 0.07$	$1.71^{g,h,i,j,k} \pm 0.13$
2	$1.24^{k,l} \pm 0.13$	$2.20^{d,e,f,g} \pm 0.07$	$2.41^{b,c,d,e,f} \pm 0.09$	$2.14^{e,f,g,h} \pm 0.03$	$2.35^{c,d,e,f} \pm 0.05$	$2.55^{b,c,d,e} \pm 0.09$
3	$1.41^{j,k} \pm 0.06$	$2.66^{a,b,c,d} \pm 0.16$	$2.84^{a,b} \pm 0.13$	$2.61^{a,b,c,d,e} \pm 0.12$	$2.64^{a,b,c,d} \pm 0.04$	$3.09^{a} \pm 0.19$
4	$1.29^{k,l} \pm 0.05$	$2.60^{c,c,d,e} \pm 0.16$	$2.72^{a,b,c} \pm 0.13$	$2.58^{b,c,d,e} \pm 0.12$	$2.68^{a,b,c,d} \pm 0.11$	$2.89^{a,b} \pm 0.66$
5	$0.80^{l} \pm 0.02$	$1.58^{i,j,k} \pm 0.03$	$1.98^{f,g,h,i} \pm 0.13$	$1.70^{h,i,j,k} \pm 0.03$	$1.72^{g,h,i,j,k} \pm 0.01$	$1.80^{g,h,i,j} \pm 0.04$

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์และแถว ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P > 0.05$)

ตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (pH) ของการหมักทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12, และ 15

ค่าพีเอช (pH) ของการหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15						
สูตร	เวลา (วัน)					
	0	3	6	9	12	15
1	$4.00^{a,b} \pm 0.00$	$3.47^{i} \pm 0.05$	$3.46^{i} \pm 0.02$	$3.54^{h} \pm 0.02$	$3.66^{g} \pm 0.0$	$3.67^{g} \pm 0.02$
2	$4.00^{a,b} \pm 0.01$	$3.89^{d,e,f} \pm 0.02$	$3.87^{f} \pm 0.01$	$3.87^{f} \pm 0.02$	$3.96^{dc} \pm 0.01$	$3.98^{a,b} \pm 0.02$
3	$4.00^{a,b} \pm 0.01$	$3.94^{c,d} \pm 0.02$	$3.91^{d,e,f} \pm 0.02$	$3.91^{d,ef} \pm 0.02$	$3.99^{a,b} \pm 0.01$	$4.01^{a} \pm 0.02$
4	$4.00^{a,b} \pm 0.01$	$3.93^{c,d} \pm 0.02$	$3.92^{c,d,e} \pm 0.02$	$3.92^{c,d,e,f} \pm 0.02$	$4.01^{a} \pm 0.01$	$4.00^{a,b} \pm 0.01$
5	$4.00^{a,b} \pm 0.01$	$3.88^{e,f} \pm 0.01$	$3.88^{e,f} \pm 0.01$	$3.88^{e,f} \pm 0.01$	$3.89^{d,e,f} \pm 0.01$	$3.88^{d,e,f} \pm 0.01$

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์และแถว ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P > 0.05$)

ตารางที่ 4.4 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (°brix) ของการหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12, และ 15

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (°brix) ของการหมักไวน์ทั้ง 5 สูตรในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15						
สูตร	เวลา (วัน)					
	0	3	6	9	12	15
1	$22.00^{a} \pm 0.00$	$6.67^{f,g,h,i} \pm 0.29$	$6.50^{g,h,i} \pm 0.50$	$6.33^{h,I,j}$	$5.20^{j} \pm 0.27$	$5.20^{j} \pm 0.27$
2	$22.00^{a} \pm 0.00$	$9.5^{e} \pm 0.00$	$7.83^{f} \pm 0.29$	$7.50^{f,g,h}$	$6.10^{I,j} \pm 0.10$	$6.10^{i,j} \pm 0.10$
3	$22.00^{a} \pm 0.00$	$9.17^{e} \pm 0.76$	$7.67^{f,g} \pm 0.29$	$7.67^{f,g} \pm 0.29$	$6.33^{h,I,j} \pm 1.16$	$6.13^{i,j} \pm 0.99$
4	$22.00^{a} \pm 0.00$	$10.50^{d} \pm 0.50$	$7.83^{f} \pm 0.29$	$7.67^{f,g} \pm 0.29$	$6.33^{h,i,j} \pm 0.29$	$6.33^{h,I,j} \pm 0.29$
5	$22.00^{a} \pm 0.00$	$18.40^{b} \pm 0.17$	$17.00^{c} \pm 0.00$	$16.3^{c} \pm 0.17$	$16.00^{c} \pm 0.20$	$15.90^{c} \pm 0.27$

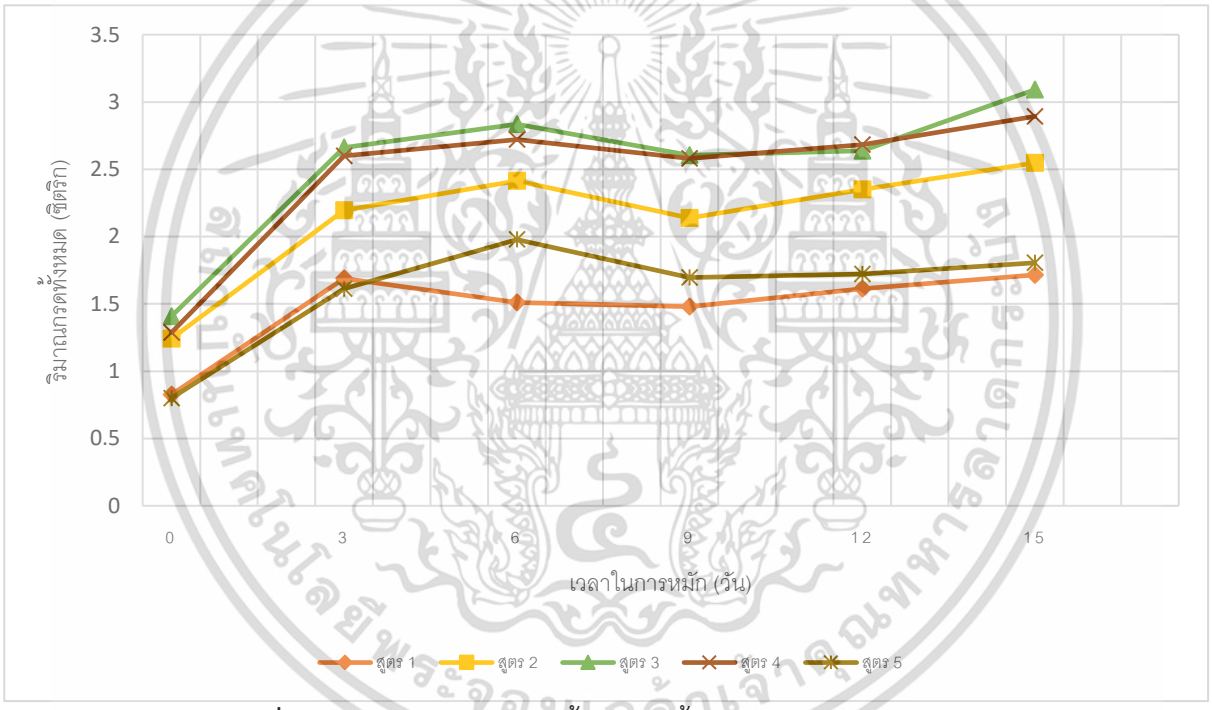
หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์และแถว ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P > 0.05$)

ตารางที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอลกอฮอล์ของการหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12, และ

ปริมาณแอลกอฮอล์ของการหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15						
สูตร	เวลา (วัน)					
	0	3	6	9	12	15
1	$0.00^{g} \pm 0.00$	$11.38^{a,b,c} \pm 0.38$	$11.70^{a,b,c} \pm 0.35$	$11.7^{a,b,c} 2 \pm 0.38$	$11.90^{a,b} \pm 0.20$	$12.03^{a,b} \pm 0.31$
2	$0.00^{g} \pm 0.00$	$10.55^{c,d} \pm 0.36$	$11.9^{a,b} \pm 0.53$	$12.03^{a,b} \pm 0.30$	$12.23^{a} \pm 0.12$	$12.23^{a} \pm 0.16$
3	$0.00^{g} \pm 0.00$	$10.98^{b,c,d} \pm 0.35$	$11.88^{a,b,c} \pm 0.18$	$11.77^{a,b} \pm 0.31$	$11.83^{a,b} \pm 0.23$	$12.03^{a,b} \pm 0.16$
4	$0.00^{g} \pm 0.00$	$10.03^{d} \pm 0.37$	$11.45^{a,b,c} \pm 0.28$	$11.97^{a,b} \pm 0.12$	$11.97^{a,b} \pm 0.12$	$12.03^{a,b} \pm 0.16$
5	$0.00^{g} \pm 0.00$	$4.1^{f} \pm 4.1$	$5.35^{e} \pm 1.25$	$5.57^{e} \pm 0.51$	$5.70^{e} \pm 0.00$	$5.70^{e} \pm 0.00$

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์และแถว ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P > 0.05$)

จากตารางที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดจากการทดลอง ปริมาณกรดทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในการหมักไวน์วันที่ 0-6 จากนั้นลดลงเล็กน้อยหลังวันที่ 6 และเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อย หลังจากนั้น และมีปริมาณกรดสูงสุดเท่ากับ 3.09 ในสูตรที่ 3 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับสูตรที่ 2 และ 4 แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรที่ 1 และสูตรที่ 5 เนื่องจากสูตรที่ 1 และ 5 ซึ่งเติมน้ำสับปะรดหรือน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองเพียงอย่างเดียว จึงทำให้ปริมาณร้อยละกรดทั้งหมดแตกต่างจากสูตรที่ 2, 3 และ 4 เนื่องจากในไวน์มีกรดอยู่หลายชนิดได้แก่ กรดซิตริก กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก ส่วนกรดซัคซินิก กรดแลคติก และกรดไพรูวิก ที่เกิดในระหว่างการหมักไวน์ส่งผลให้ ค่า pH ของไวน์ลดลง (Chanthai and Danvirutai, 2004) ซึ่งสอดคล้องกับการสะสมของร้อยละกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นทำให้ค่า pH ลดลง (Chanprasartsuk *et al.*, 2012)

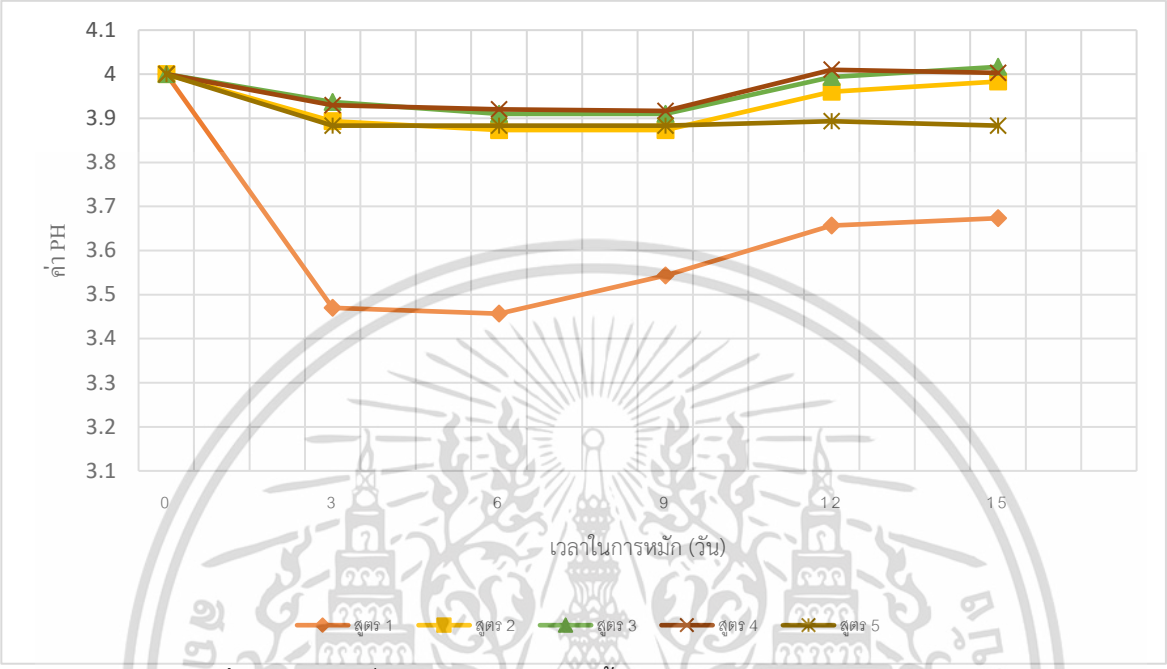


รูปที่ 4.7 การเกิดปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักแต่ละสูตรทุกๆ 3 วัน

จากตารางที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าทุกชุดการทดลองค่า pH มีการเปลี่ยนแปลงในช่วงวันที่ 3 - 6 และหลังจากนั้นค่าพีเอชจะมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ดังนั้นวันที่ 3-6 เป็นวันที่มีค่า pH ที่เหมาะสมแก่ไวน์มากที่สุดตามมาตรฐานของไวน์ที่ดีที่ช่วงค่า pH 3.5-3.8 การที่ปริมาณกรดน้อยทำให้ค่าพีเอชสูงขึ้น และผลการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกรดในการทดลองนี้จะเห็นว่าร้อยละกรดทั้งหมดที่มีค่าเพิ่มขึ้นทำให้ค่า pH ลดลง (Chanprasartsuk *et al.*, 2012) ซึ่งตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนไวน์ผลไม้ ไม่ได้กำหนดค่าความเป็นกรด-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

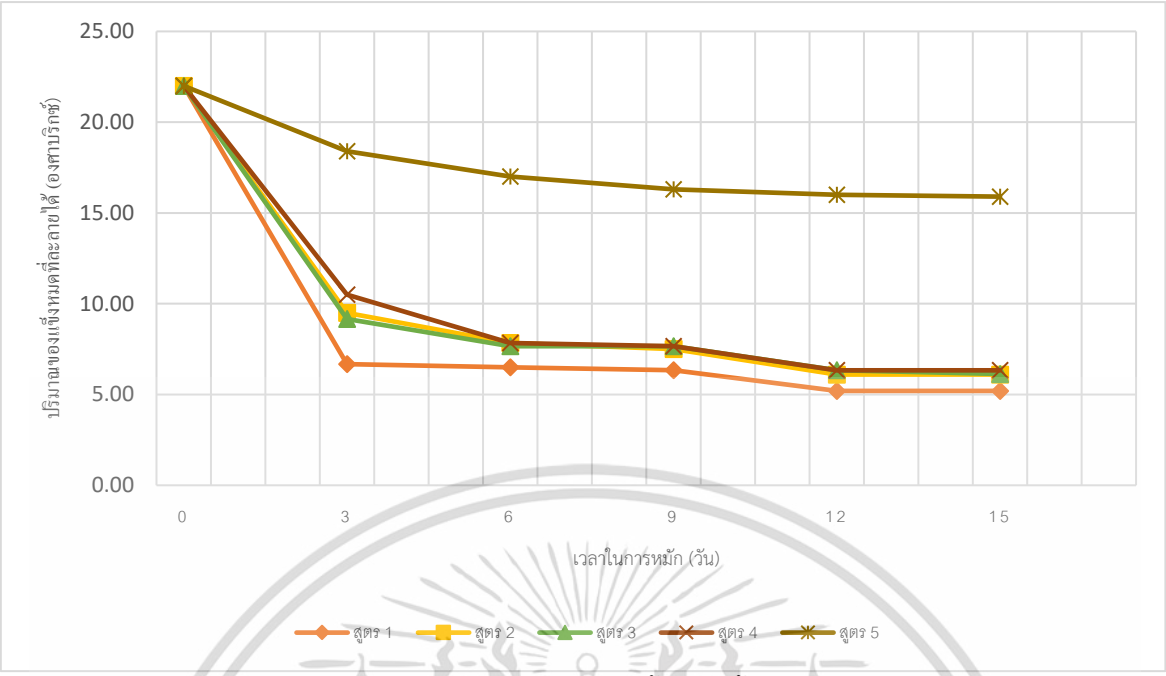
ด่างของผลิตภัณฑ์ไว้ สำหรับไวน์ผลไม้จะมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 3.3 – 4.5 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของผลไม้ด้วย (เยาวพา, 2552)



รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในน้ำหมักแต่ละสูตรทุกๆ 3 วัน

จากตารางที่ 4.4 พบว่าการทดลองนี้ของแข็งที่ละลายน้ำได้มีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ จากวันที่ 1-15 ดังรูปที่ 4.9 โดยมีสูตรที่ 1, 2, 3 และ 4 มีค่าของแข็งที่ละลายได้ลดลงใกล้เคียงกันซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ร้อยละ 95 ต่างจากสูตรที่ 5 ที่ปริมาณของแข็งลดลงน้อยที่สุดเหลืออยู่ร้อยละ 15.9 (ตารางที่ 4.4) เนื่องจากในสูตรที่ 5 เป็นการใช้น้ำสกัดจากถั่งเช่าสีทองเพียงอย่างเดียว และการลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มีความสัมพันธ์กับการสร้างแอลกอฮอล์ของยีสต์ โดยหากปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มีการลดลงมากปริมาณของแอลกอฮอล์ก็จะมากขึ้นเนื่องจากยีสต์ใช้ของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้เป็นอาหารเพื่อการเจริญเติบโต พร้อมกับการผลิตแอลกอฮอล์ไปพร้อมๆกัน (Wanapu *et al.*, 2003)

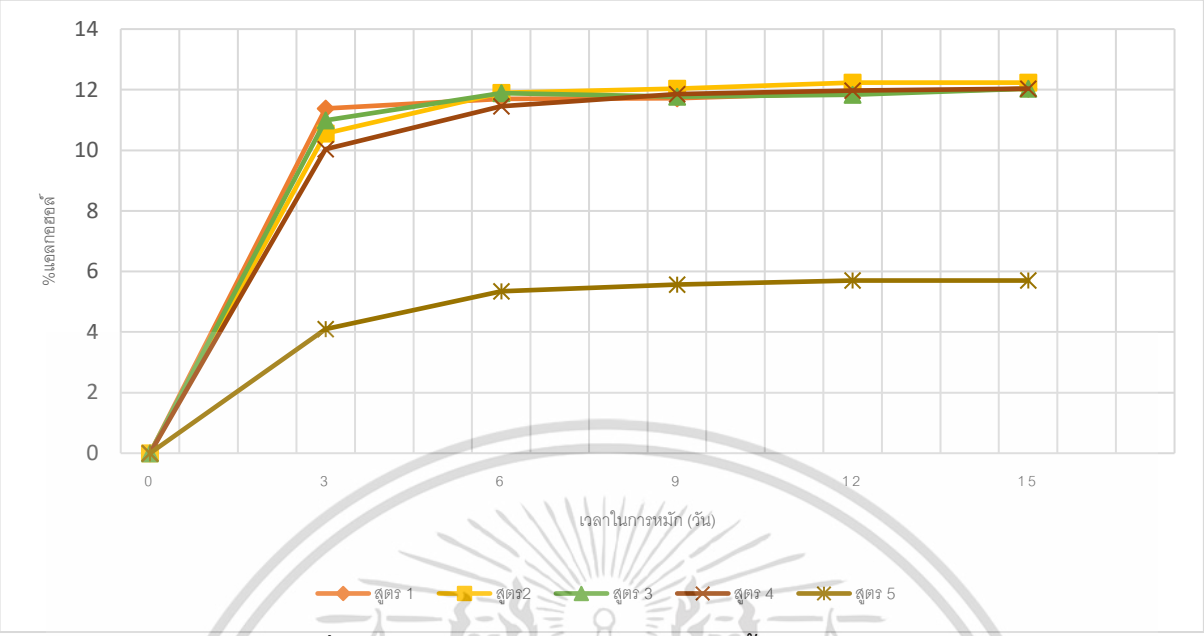
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงค่าของแข็งที่ละลายน้ำได้ในน้ำหมักแต่ละสูตรทุกๆ 3 วัน

ในกระบวการหมักทั้ง 5 สูตรมีปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นในทุกตัวอย่าง และเพิ่มขึ้นอย่างแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วง 3 วันแรก หลังจากนั้นปริมาณแอลกอฮอล์ เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.10 เนื่องมาจากในระหว่างการกระบวการหมักเชื้อยีสต์ที่เติมลงไปมีการใช้น้ำตาลเพื่อเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์ จากตารางที่ 4.4 จะเห็นได้ว่า สูตรที่ 2 มีแอลกอฮอล์สูงสุดวันที่ 12 - 15 ซึ่งมีปริมาณแอลกอฮอลล์เท่ากับร้อยละ 12.23 และ 12.23 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรที่ 1, 3 และ 4 ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 12.03, 12.03 และ 12.03 แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรที่ 5 ที่มีปริมาณร้อยละแอลกอฮอล์เท่ากับ 5.70 ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นในการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนไวน์ผลไม้ มผช. 2/2546 ทีระบุว่าไวน์ผลไม้ที่หมักจากวัตถุดิบทีเป็นผลไม้มีแอลกอฮอล์ไม่เกินร้อยละ 15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 การเกิดปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมักแต่สูตรทุกๆ 3 วัน

4.7 ผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสทั้งทางด้านสี ความใส กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมของไวน์ทั้ง 5 ตัวอย่าง ด้วยวิธี Hedonic scale 5 point โดยแบ่งเป็นอย่างละ 2 ตัวอย่าง ดังนี้ ไวน์ที่ผ่านการบ่มเป็นเวลา 15 วัน และไวน์ที่ผ่านการบ่มเป็นเวลา 30 วัน ดังตารางที่ 4.7 และ 4.7

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสทางด้านสี ความใส กลิ่น รสชาติ และ ความชอบโดยรวมของไวน์สับปะรดที่เสริมด้วยน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้ง 5 สูตรเมื่อทำการบ่มเป็นเวลา 15 วัน

สูตร	พารามิเตอร์				
	สี	ความใส	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
1	$4.23^{a} \pm 1.01$	$4.27^{a} \pm 0.91$	$3.27^{a} \pm 0.98$	$2.50^{c} \pm 1.11$	$2.83^{c} \pm 1.15$
2	$3.90^{a} \pm 1.03$	$3.63^{a} \pm 1.03$	$3.17^{a} \pm 1.02$	$2.60^{c} \pm 1.17$	$2.70^{c} \pm 1.09$
3	$3.67^{a} \pm 1.16$	$3.80^{a} \pm 1.13$	$3.33^{a} \pm 0.96$	$2.80^{c} \pm 0.89$	$2.97^{c} \pm 0.96$
4	$3.53^{a} \pm 1.14$	$3.53^{a} \pm 1.22$	$3.47^{a} \pm 0.97$	$2.83^{c} \pm 1.01$	$3.03^{a,b,c} \pm 1.07$
5	$4.03^{a} \pm 0.72$	$3.93^{a} \pm 0.98$	$3.47^{a} \pm 1.25$	$4.03^{a} \pm 0.89$	$3.87^{a,b} \pm 0.86$

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์และแถว ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P > 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.6 ที่ช่วงการบ่ม 15 วัน แสดงให้เห็นว่าความชอบทางด้านสีสูตรที่ 1 มีคะแนนมาที่สุดที่ 4.23 อยู่ในเกณฑ์ชอบมาก คะแนน พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรที่ 2, 3, 4 และ 5 ความชอบทางด้านความใสของสูตรที่ 1 มีคะแนนมากที่สุดที่ 4.27 อยู่ในเกณฑ์ชอบมาก คะแนน พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรที่ 2, 3, 4 และ 5 ความชอบทางด้านกลิ่นของสูตรที่ 4 และ 5 มีคะแนนมากที่สุดที่ 3.47 คะแนน อยู่ในเกณฑ์เฉยๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรที่ 1, 2 และ 3 ความชอบทางด้านรสชาติของสูตรที่ 5 มีคะแนนมากที่สุดที่ 4.03 คะแนน อยู่ในเกณฑ์ชอบมากและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรที่ 1, 2, 3 และ 4 ความชอบโดยรวมของสูตรที่ 5 มีคะแนนมากที่สุดที่ 3.87 คะแนน อยู่ในเกณฑ์ชอบมาก ที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรที่ 4

ตารางที่ 4.7 ตารางแสดงผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสทางด้านสี ความใส กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมของไวน์สับปะรดที่เสริมด้วยน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้ง 5 สูตรเมื่อทำการบ่มเป็นเวลา 30 วัน

สูตร	พารามิเตอร์				
	สี	ความใส	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
1	$3.93^{a} \pm 0.98$	$4.20^{a} \pm 0.89$	$3.57^{a} \pm 1.01$	$2.70^{c} \pm 1.15$	$2.83^{c} \pm 1.21$
2	$3.77^{a} \pm 1.04$	$3.67^{a} \pm 1.16$	$3.43^{a} \pm 1.20$	$3.00^{b,c} \pm 1.20$	$3.20^{a,b,c} \pm 1.13$
3	$3.83^{a} \pm 1.01$	$3.73^{a} \pm 1.05$	$3.37^{a} \pm 1.11$	$3.00^{b,c} \pm 1.11$	$3.07^{a,b,c} \pm 1.23$
4	$3.83^{a} \pm 1.01$	$3.57^{a} \pm 1.10$	$3.23^{a} \pm 1.26$	$3.07^{b,c} \pm 1.26$	$3.00^{b,c} \pm 1.23$
5	$3.80^{a} \pm 1.03$	$3.77^{a} \pm 1.07$	$3.57^{a} \pm 1.25$	$3.83^{a,b} \pm 1.15$	$3.90^{a} \pm 0.99$

หมายเหตุ ในแต่ละสดมภ์และแถว ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P > 0.05$)

จากตารางที่ 4.7 ที่ช่วงการบ่ม 30 วัน แสดงให้เห็นว่าความชอบทางด้านสีสูตรที่ 1 มีคะแนนมากที่สุดที่ 3.93 คะแนน อยู่ในเกณฑ์ชอบมาก ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรที่ 2, 3, 4 และ 5 ความชอบทางด้านความใสของสูตรที่ 1 มีคะแนนมากที่สุดที่ 4.20 คะแนน อยู่ในเกณฑ์ชอบมาก ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรที่ 2, 3, 4 และ 5 ความชอบทางด้านกลิ่นของสูตรที่ 1 และ 5 มีคะแนนมากที่สุดที่ 3.57 คะแนนอยู่ในเกณฑ์ชอบมาก แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรที่ 2, 3 และ 4 ความชอบทางด้านรสชาติของสูตรที่ 5 มีคะแนนมากที่สุดที่ 3.83 คะแนน อยู่ในเกณฑ์ชอบมาก ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสูตรที่ 2, 3 และ 4 และความชอบโดยรวมของสูตรที่ 5 มีคะแนนมากที่สุดที่ 3.90 คะแนน อยู่ในเกณฑ์ชอบมากที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรที่ 2 และ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ผลของการศึกษาการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยวีธีการที่กล่าวมาข้างต้นให้ผลผลิตของดอกเห็ดหรือ fruiting body ปริมาณที่มาก ทำการวิเคราะห์สารสำคัญด้วยเครื่อง HPLC พบว่าได้สารคอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน และพอลิแซ็กคาไรด์เท่ากับ 3.64, 2.10 และ 16.97 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

ผลการศึกษาปริมาณของการศึกษาโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ที่เหมาะสมในน้ำสับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยปริมาณโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้น 150, 200 และ 250 ส่วนในล้านส่วน จากการทดสอบพบว่าปริมาณโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ที่ 150 ส่วนในล้านส่วน เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม

ผลการแปรผันอัตราส่วนน้ำสับปะรดต่อน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้ง 5 สูตร ให้ผลการวิเคราะห์ทางเคมีในไวน์สับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองระหว่างการหมัก 15 วัน พบว่าไวน์ปริมาณกรดทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกสูตร ค่า pH อยู่ในช่วง 3.67-4.01 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ลดลงทุกสูตร โดยสูตร 1, 2, 3 ละ 4 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และปริมาณแอลกอฮอล์ สูงสุดในสูตรที่ 2 มีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละเท่ากับ 12.23 ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นในการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนไวน์ผลไม้ มผช. 2/2546

ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสในผู้ทดสอบทั้งหมด 30 คน พบว่าคะแนนความชอบเฉลี่ยด้านสีและความใสสูตรที่ 1 ที่ทำการบ่มเป็นเวลา 15 วัน มีระดับคะแนนสูงสุดเท่ากับ 4.23 และ 4.27 ตามลำดับ ด้านกลิ่นทุกสูตรไม่แตกต่างอย่าวมีนัยสำคัญทางสถิติ มีระดับคะแนนอยู่ในเกณฑ์คือ เฉยๆ ด้านรสชาติสูตรที่ 5 ที่ทำการบ่มเป็นเวลา 15 วัน มีระดับคะแนนสูงสุดเท่ากับ 4.03 คะแนนอยู่ในเกณฑ์ชอบมาก ในส่วนด้านความชอบโดยรวมได้คะแนนมากที่สุดคือสูตรที่ 5 ที่ทำการบ่มเป็นวลา 30 วัน ความเข้มข้นของถั่งเช่า 60 กรัมต่อลิตร มีระดับคะแนนความชอบสูงสุดเท่ากับ 3.90 คะแนนอยู่ในเกณฑ์ชอบมาก รองลงมาคือสูตรที่ 5 ที่ทำการบ่มเป็นวลา 15 วัน และสูตรที่ 2 ที่ทำการบ่มเป็นเวลา 30 วัน มีระดับคะแนนความชอบโดยรวมเท่ากับ 3.87-3.20 ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของสารสำคัญด้วยเครื่อง HPLC พบสูตรที่ 5 ที่ทำการบ่มเป็นเวลา 30 วัน มีสารคอร์ไดเซปินเหลือ 0.67 มิลลิกรัมต่อกรัม รองลงมาคือสูตรที่ 5 ที่ทำการบ่มเป็นเวลา 15 วัน และสูตรที่ 2 ที่ทำการบ่มเป็นเวลา 30 วัน มีสารคอร์ไดเซปินเหลือ 0.71 และ 0.82 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ศึกษาการหมักที่เวลาลดลงและเวลาบมที่เพิ่มขึ้น ส่งผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสเพิ่มเติม

5.2.2 ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลของยีสต์ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณอะดีโนซีนและคอ์ไดเซปินในไวน์เพิ่มเติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ ทองแม้น ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา และภสวินี ดีแท้. 2557. การลดความเปรี้ยวของไวน์สับปะรดด้วยแบคทีเรียกรดแล็กติกสายพันทางการค้า และออโตโคนัสไอโซเลท. ว.วิทย์. กษ. 45(2): 21-24.

จิรภา พงษ์จันตา, อัณณ์กาญจน์ นวลบุญเรือง, ลชินี ปานใจ และธัญลักษณ์ บัวผัน. 2554. การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอินทรีย์และน้ำตาลในน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย (*Ananas comosus cv*. Smooth Cayenne) ที่ต่างพื้นที่ปลูกและระดับความสุก. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. 267-274.

จิตรสุดา กุลวัฒน์. 2564. การเสริมสร้างการสังเคราะห์สารคอร์ไดเซปิน อะดีโนซีน และโพลีฟีนอลในการเพาะเลี้ยงถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารกระตุ้น. วิทยานิพนธ์มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, จังหวัดมหาสารคาม.

จีเอ็มโอ ไทยแลนด์. (2560). เผยต้นกำเนิดสมุนไพรเห็ดถั่งเช่าพร้อมสรรพคุณและประโยชน์. (ออนไลน์). Available : https://www.omgthailand.net/cordyceps-origin- and-benefits/ (สืบค้นวันที่ 9 พฤษภาคม 2566).

ณัฐพงษ์ สิงห์ภูงา, พีระศักดิ์ ฉายประสาท และบุญส่ง แสงอ่อน. 2560. อิทธิพลของการเก็บรักษาดอกเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งหลังการเก็บเกี่ยวต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพและเคมี.ว. วิทย. กษ. 48 : 3: 265-268.

ณัฐพงษ์ สิงห์ภูงา และรัตนะ ยศเมธากุล . 2566. การผลิตไวน์เหลืองจากสับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง. วารสารเกษตร. 39(2): 219 – 231.

ดิสไทย. (ม.ป.ป.). คอร์ไดเซปิน. (ออนไลน์). Available: https://www.disthai.com/17275725/ คอร์ไดเซปิน (สืบค้นวันที่ 28 พฤษภาคม 2566) คอร์ไดเซปิน

ตันติกร เติมแก้ว. 2563. การผลิตไข่มุกป๊อปที่มีส่วนผสมของถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) ด้วยเทคนิครีเวิร์สสเฟียริฟิเคชั่น. วิทยานิพนธ์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร.

ทะเนตร อุฤทธิ์ . 2561. การผลิตไวน์จากเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*). งานวิจัยประยุกต์. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์, นครสวรรค์.

ธัญญา ทะพิงค์แก. (2555). ผลของวิธีการเพาะเลี้ยงต่อการผลิตสารคอร์ไดเซปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

นุจรี สอนสะอาด, สุภาพร รผักชี และวิลาวัลย์ เกสร. 2564. สภาวะที่เหมาะสมในการหมักไวน์ลำดวนโดยใช้กล้าเชื้อแบบตรึงเซลล์. วารสารเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์. สุรินทร์

นันทพร เทพแก้ว, วิรัติ อำพันธุ์, ไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน และนิอร โฉมศรี. 2556. ผลของระดับความสุขแก่แล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายพันธุ์ยีสต์ต่อคุณภาพไวน์สับปะรด. การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่ 12. 9 – 12 พฤษภาคม 2556. ณ ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค บางนา. กรุงเทพมหานคร.

ปริญญา จันทรศรี. (ม.ป.ป.). สิ่งที่ควรรู้ก่อนจะเพาะเห็ดถั่งเช่าเป็นอาชีพ. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. Available: https://stri.cmu.ac.th/article_detail.php?id=75. (สืบค้นวันที่ 20 พฤษภาคม 2566)

ปฐมพงษ์ เที่ยงเพชร และราตรี บุมี. 2557. ปริมาณเอทานอลในไวน์ 5 ชนิด. รายงานผลการวิจัย. มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร, กำแพงเพชร.

ประดิษฐ์ ครุวัณณา. 2546. ไวน์: ศาสตร์และศิลป์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร.

ประภาพรรณ ซอหะซัน. 2559. การอบรมเชิงปฏิบัติการการเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทอง. ในงานวิจัยและส่งเสริมวิชาการด้านบริหารงานวิจัยและบริการวิชาการ.สำนักวิชาสหวิทยาการ. มหาวิทยาลัยมหิดล.

ประวีณา ลาภา, เพ็ญขวัญ ชมปรีดา และวิชัย หฤทัยธนาสันต์. 2554. การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักข้าวเหนียวดำกล้อง. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ. มหาวิทยาลัยขอนแก่น ครั้งที่ 12.

เยาวพา สุวัตถิ. 2552. เกร็ดความรู้เรื่องไวน์. วารสารเพื่อการวิจัยและพัฒนาองค์การเภสัชกรรม. 16(2): 1-3

วิจิตรา แดงปรก, วิวัฒน์ หวังเจริญ, ธีระพล เสนพันธุ์, มงคล ถิรบุญยานนท์ และสุทธิดา สุทธิเลิศ. 2564. การเตรียมสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดพอลิแซคคาไรด์จากเห็ดถั่งเช่าสีทอง. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. การประชุมวิชาการวิจัยและนวัตกรรมสร้างสรรค์ ครั้งที่ 7: 452-466.

วัชรินทร์ อ้มทองหลาง. 2564. การประยุกต์ใช้ฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อเป็นอาหารเสริมสำหรับสุกรอนุบาล. วิทยานิพนธ์มหาวิทยาลัยนเรศวร. จังหวัดพิษณุโลก.

วรรณรัตน์ เฉลิมแสนยากร, สวรรยา ปัญญานันท์ และชนกภัทร ผดุงอรรถ. 2561. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวน์สับปะรดจากสับปะรดเหลือทิ้ง. การประชุมวิชาการระดับชาติครั้งที่ 6: 433-438.

ศิรัล ฌานปัญญาชน, สวรส ปานฉิม และสิริวรินทร์ เจริญจิตร. 2561. การใช้เทคนิคมาเซอเรชั่น (maceration) เพื่อเพิ่มสารประกอบฟีนอลิกในไวน์แดงที่เสริมด้วยเห็ดถั่งเช่าสีทอง. วิทยานิพนธ์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร.

ศักดิ์สิทธิ์ จันทร์ไทย และไพบูลย์ ด่านวิรุทัย. 2547. การวิเคราะห์ทางเคมีของไวน์พื้น. บ้านวารสารศูนย์บริการวิชาการ, 28-35.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2546. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. มผช.2/2546. กรุงเทพฯ. 7 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อรอง จันทร์ประสาทสุข. 2561. การคัดแยกจุลินทรีย์ออโตโคนัสที่เกี่ยวข้องกับการหมักน้ำสับปะรดคั้นสด เป็นกล้าเชื้อสำหรับการผลิตน้ำผลไม้น้ำตาลต่ำ. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์.มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.

อำพรรณ ชัยกุลเสรีวัฒน์ และสุนันทิดา สิงหพล. 2559. การผลิตไวน์สับปะรดผสมแครอท. วารสาวิทยาศาสตร์เกษตร. 47(2): 165-169.

Alexopoulos C.J., Mims C.W. and Blackwell M. 1996. Introductory Mycology. Fourth Edition. John Wiley & Sons Inc., New York.

Chan J., Zhang W., Lu T., Li J., Zheng Y. And Kong L. 2006 . Morphological and genetic characterization of a cultivated *Cordyceps sinensis* fungus and its polysaccharide component possessing antioxidant property in H22 tumor bearing mice. Life Sciences. 78 (23): 2742-2748.

Chanprasartsuk O., Pheanudomkitlert K. and Toonwai D. 2012. Pineapple wine fermentation with yeasts isolated from fruit as single and mixed starter cultures. Asian Journal of Food and Agro-Industry. 5(2): 104-111.

Chanthai S. and Danvirutai P. 2004. Chemical analysis of locally produced wines. Journal of University Academic Service Center. 12(1): 23-29.

Chompookam J., Subnum V. and Jaruwatanaphan T. 2014. Effect of component ratio on coffee pulp wine quality and consumer's satisfaction. Khon Kaen Agriculture Journal, 42(3): 415-420.

Das S.K., Masuda M., Sakurai A. and Sakakibara M. 2010. Medicinal uese of the mushroom *Cordyceps militaris*: current state and prospects. Fitoterepia. 81(8): 961-8.

Gu Y.X., Wang Z.S. and Li S.X. 2007. Effect of multiple factors on accumulation of nucleosides anbases in *Cordyceps militaris*. Food Chemistry. 102: 1304-1309.

Kodama E.N., Caffrey R.P., Yusa K. and Mitsuya H. 2000. Antileukemic activity and mechanism Of action of cordycepin against terminal deoxynucleotidyl tranferase-positive (TdT+) leukemic cells. Biochemical Pharmacology. 59: 273-281.

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

Li S., Zhao K.J., Ji Z.N., Song Z.H., Dong T.T., Lo C.K., Cheung J.K., Zhu S.Q., and Tsim K.W.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2003. A polysaccharide isolated from *Cordyceps sinensis* a traditional chinese medicine, protects PC1-2 cells against hydrogen peroxide induced injury. Life sciences. 73(19): 2503-2513.

Lin W.H., Tsai M.T., Chan Y.S., Hou R.C., Hung H.H. Li C.H., Wang H.K., Lai M.N. and Jeng K.C. 2007. Improvement of sperm production in subfertile boars by *Cordyceps militaris* supplement. American Journalof Chinese Medicine. 35: 637-647.

Liu, J. Feng, C. Li, X. Chang, M. Meng, J. and Xu, L. 2016. Immunomodulatory and antioxidative activity of *Cordyceps militaris* polysaccharides in mice. International Journal of Biological Macromolecules. 86: 594–598.

Liu, X.C. Zhu, Z.Y. Tanga, Y.L. Wang, M.F. Wang, Z. Liu, A.J. and Zhang, Y.M. 2016. Structural properties of polysaccharides from cultivated fruit bodies and mycelium of *Cordyceps militaris*. Carbohydrate Polymers. 142: 63–72.

Migyi Y., Belwal T., Devkota H.P., Li L. and Lion Z. 2019. Trends of utilizing mushrooms polysaccharides (MPs) as potent nutraceutical components in food and medicine: A comprehensive review. Trends in Food Science and Technology. 92: 94-110.

Muller, We G., Seibert G., Beyer R., Breter H.J., Maidhof A. and Zahn R.K. 1977. Effect of cordycepin on nuclein acid metabolism in L5178Y cells and onnuclein acid synthesizing enzyme system. Cancer Research. 37: 3824-3833.

Parcell A.C.,Smith J.M., Schulthies S.S., Myrer J.W. and Fellingham G. 2004. *Cordyceps sinensis* (CordyMax Cs-4) supplementation does not improve endurance exercise performance. International Journal Sport Nutrition Exercise Metaabolism. 14: 236-242.

Sun Y., Shao Y., Zhang Z., Wang L., Mariga A.M., Pang G., Geng C., Ho C., Hu Q. and Zhao L. 2014. Regulation of human cytokines by *Cordyceps militaris*. Journal of Food and Drug Analysis. 22: 463-467.

Sung G-H, Sung J-M, Hywel-Jones NL and Spatafora JW. 2007. A multi-gene phylogeny of Clavicipitaceae (Ascomycota, Fungi): Identification of localized incongruence using a combinational bootstrap approach. Molecular Phylogenetics and Evolution, in press.

Wanapu C., Boonkerd N. and Dithavibool L.. 2003. Winemaker 1. Somboon Printing Co., Ltd, Nakhon Ratchasima. 222 pp.

Winkler D. and Yartsa Gunbu. 2008. *Cordyceps sinensis* and the fungal commodification of the Economy in Tibet AR. Economic Botany. 63: 291-305.

Yu R., Song L., Zhao Y., Bin W., Wang L., Zhang H., Wu Y., Ye W. and Yao X. 2004. Isolation and

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Biological properties of polysaccharides CPS-1 from cultured *Cordyceps militaris*. Fitoterapia. 75: 465-472.

Yu, Yang R., Song W., Yan L., Zhang C. and Zhao Z. 2007. Structural characterization and antioxidant activity of a polysaccharide from the fruiting bodies of cultured *Cordyceps militaris*. Carbohydrate Polymers. 70: 430-437.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สูตรอาหารแข็ง Potato dextrose agar (PDA) (ดัดแปลงจากตันติกร เติมแก้ว, 2564)

ตารางภาคผนวก ก1 สูตรอาหารแข็ง Potato dextrose agar (PDA)

วัตถุดิบ	(ปริมาณ) กรัม/ลิตร
น้ำกลั่น	800
มันฝรั่ง	200
ข้าวโพดอ่อน	50
กลูโคส	20
ไข่ไก่	20
ผงวุ้น	20

ขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง

1.นำมันฝรั่งไปล้างน้ำให้สะอาดและปอกเปลือก แล้วนำมาหั่นเป็นลูกเต๋าขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปริมาณ 200 กรัม

2.นำข้าวโพดอ่อนไปล้างน้ำให้สะอาดแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็ก ปริมาณ 50 กรัม

3.ต้มน้ำกลั่นปริมาตร 800 มิลลิลิตร ให้เดือดแล้วใส่มันฝรั่งและข้าวโพดอ่อนลงไปแล้วจับเวลา 20 นาที

4.จากนั้นกรองเอาแต่ส่วนใสด้วยผ้าขาวบาง

5.ใส่ไข่ไก่และผสมให้เข้ากัน เติมน้ำตาลกลูโคส และผงวุ้น ผสมให้เข้ากัน

6.ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

7.นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมอาหารเหลวเลี้ยงหัวเชื้อสูตร 1 Potato dextrose broth (PDB)

ตารางภาคผนวกที่ ก2 สูตรอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อสูตร 1 Potato dextrose broth (PDB)

วัตถุดิบ	(ปริมาณ)กรัม/ลิตร
น้ำกลั่น	800
มันฝรั่ง	200
ข้าวโพดอ่อนหั่น	50
ไข่ไก่	20
กลูโคส	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง

1.นำมันฝรั่งไปล้างน้ำให้สะอาดและปอกเปลือก แล้วนำมาหั่นเป็นลูกเต๋าขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปริมาณ 200 กรัม

2.นำข้าวโพดอ่อนไปล้างน้ำให้สะอาดแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็ก ปริมาณ 50 กรัม

3.ต้มน้ำกลั่นปริมาตร 800 มิลลิลิตร ให้เดือดแล้วใส่มันฝรั่งและข้าวโพดอ่อนลงไปแล้วจับเวลา 20 นาที

4.จากนั้นกรองเอาแต่ส่วนใสด้วยผ้าขาวบาง

5.ใส่ไข่ไก่และน้ำตาลกลูโคสผสมให้เข้ากัน

6.ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

7.นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเพื่อเกิดดอกถั่งเช่าสีทองเตรียม 1000 มิลลิลิตร

ตารางภาคผนวกที่ ก3 สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อเกิดดอกถั่งเช่าสีทอง 1000 มิลลิลิตร

วัตถุดิบ	**(ปริมาณ)กรัม/ลิตร**
น้ำกลั่น	800
มันฝรั่ง	200
ข้าวโพดอ่อนหั่น	50
ไข่ไก่	20
กลูโคส	20
หนอนไหม	40

ขั้นตอนการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง

1. นำมันฝรั่งไปล้างน้ำให้สะอาดและปอกเปลือก แล้วนำมาหั่นเป็นลูกเต๋าขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปริมาณ 200 กรัม

2. นำข้าวโพดอ่อนไปล้างน้ำให้สะอาดแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็ก ปริมาณ 50 กรัม

3. ต้มน้ำกลั่นปริมาตร 800 มิลลิลิตร ให้เดือดแล้วใส่มันฝรั่งและข้าวโพดอ่อนลงไปแล้วจับเวลา 20 นาที

4. จากนั้นกรองเอาแต่ส่วนใสด้วยผ้าขาวบาง

5. ใส่ไข่ไก่ที่ปั่นรวมกับหนอนไหมผสมให้เข้ากัน แล้วเติมน้ำตาลกลูโคสลงไป

6. ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

7. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1.การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อเริ่มต้นของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารแข็ง PDA

รูปภาคผนวกที่ ข1 ระยะการเจริญของหัวเชื้อเริ่มต้นเห็ดถั่งเช่าสีทองบนอาหารแข็ง PDA หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 14 วัน

2.การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว PDB

รูปภาคผนวกที่ ข2 การเจริญเติบโตของหัวเชื้อเริ่มต้นเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเหลว PDB การเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าในที่มืดเป็นเวลา 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.การเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่

รูปภาคผนวกที่ ข3 ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB เสริมไข่ไก่

รูปภาคผนวกที่ ข4 ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหารเหลว PDB ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าเสริมไข่ไก่หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มีแสงหรือเปิดดอกเป็นเวลา 30 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาคผนวกที่ ข5 ระยะการเจริญเติบโตของเห็ดถั่งเช่าสีทองในอาหารเลี้ยงเชื้อสภาวะแข็งที่มีจมูกข้าวไรซ์เบอรี่เป็นแหล่งคาร์บอนและเสริมด้วยอาหาร PDB เสริมไข่ไก่หลังจากการเพาะเลี้ยงในที่มีแสงหรือเปิดดอกปืนเวลา 60 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การเตรียมสารและการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์โดยวิธีแอนโทรน (Dreywood, 1946)

1. กรดซัลฟิวริกร้อยละ 75 : เตรียมโดยใส่น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 500 มิลลิลิตร ใส่แท่งเหล็กวางในอ่างน้ำบนแท่งกวน (ทำในตู้ดูดควัน) ตวงกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (ร้อยละ 95-97) ปริมาตร 390 มิลลิลิตร เติมลงในขวดปรับปริมาตรที่มีน้ำกลั่นอย่างช้าๆ และระมัดระวัง ปล่อยให้เย็นตัวที่อุณหภูมิห้องแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

2. สารละลายแอนโทรน : ชั่งสารแอนโทรน 0.5 กรัม ลงในบีกเกอร์ เติม absolute ethanol 5 มิลลิลิตร คนให้พอดีละลายแล้วเทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิตร มีกรดซัลฟิวริกร้อยละ 75 จากนั้นกลั้วบีกเกอร์ด้วย absolute ethanol 5 มิลลิลิตร เทลงในขวดปรับปริมาตรอีกครั้ง และ ปรับปริมาตรด้วยกรดซัลฟิวริกร้อยละ 75 ใส่แท่งเหล็ก ปิดฝาแล้วห่อขวดด้วยฟลอยด์ (ห้ามโดนแสง) จากนั้นนำไปตั้งบนแท่งกวน เพื่อให้สารแอนโทรนละลายจนหมด

3. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน เตรียมชั่งกลูโคสมา 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตร สุดท้ายเป็น 1000 มิลลิกรัม จะได้สารละลายกลูโคสเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมา เจือจางให้เป็นความเข้มข้นตั้งแต่ 0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนี้

ตารางภาคผนวกที่ ค1 การเจือจางสารละลายกลูโคสมาตรฐานด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 0-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หลอดที่	สารละลายกลูโคส (0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	สารละลายกลูโคสมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
1	0	10	0
2	2	8	20
3	4	6	40
4	6	4	60
5	8	2	80
6	10	0	100

วิธีการทดลอง

1. เติมสารละลายกลูโคสมาตรฐานหรือสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตรในหลอด ทดลอง
2. นำหลอดไปแช่ในอ่างน้ำแข็ง รอจนสารละลายในหลอดทดลองเย็นลง
3. เติมสารละลายแอนโทรนที่แช่เย็นลงไป 5 มิลลิลิตร แล้วเขย่าผสมให้เข้ากัน (ขณะที่เติมสารละลายแอนโทรนหลอดทดลองต้องแช่อยู่ในอ่างน้ำแข็ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. แช่สารละลายทุกหลอดไว้จนอุณหภูมิเย็นลงเหลือ 0 องศาเซลเซียส

5. นำหลอดทดลองไปแช่ในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาแช่ในอ่างน้ำเย็นอีกครั้ง

6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร (เขย่าผสมหลอดทดลองทุกครั้ง)

7. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อหาความเข้มข้นของกลูโคสในสารละลายตัวอย่าง

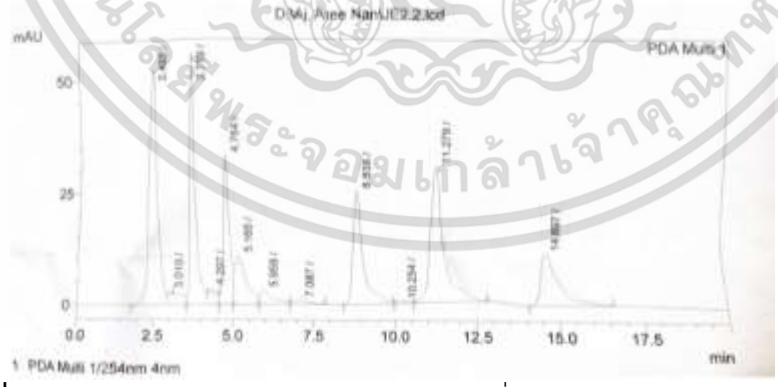
2. การเตรียมสารและการวิเคราะห์สารคอร์ไดเซปิน (Li *et al*., 2015)

2.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์

นำดอกเห็ดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาตัดเอาเฉพาะส่วนที่เป็นดอกเห็ดไปชั่งเพื่อหา น้ำหนักก่อนอบ แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 32 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะมีความชื้นเหลือ 10% จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักหลังอบ คำนวณหาร้อยละความชื้น อัตราผลผลิตมวลชีวภาพแห้งต่อโหล และจากนั้นนำมาบดโดยใช้เครื่องปั่นให้เป็นผงละเอียด นำมาร่อนผ่าน sieve ขนาด 200 เมท ถ้าขนาดอนุภาคยังมีขนาดใหญ่ก็นำไปปั่นซ้ำอีกครั้งจนมีขนาดเล็กผ่านตะแกรงร่อนได้หมด

2.2 การวิเคราะห์สารคอร์ไดเซปิน

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้นด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์ C18 (ขนาด 3.5 ไมโครเมตร×250 มิลลิเมตร×4.6 มิลลิเมตร) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิคอลัมน์ 40 องศาเซลเซียส ฉีดตัวอย่างเข้าคอลัมน์ 0.1 ไมโครลิตร เฟสเคลื่อนที่ใช้ เมทานอลต่อน้ำบริสุทธิ์อัตราส่วน 15:85 วิเคราะห์ด้วยระยะเวลาการฉีด
20 นาทีต่อตัวอย่าง แล้วทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารจากพื้นที่ใต้กราฟที่เวลาประมาณ11-12 นาที มาทำโครมาโตแกรมจะได้กราฟมาตรฐานสมการเส้นตรงของสารคอร์ไดเซปินมาตรฐาน จะได้สมการเส้นตรง คือ Y=aX+b ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ไดเซปินจากตัวอย่างที่ได้หลังจาก คำนวณกราฟมาตรฐาน



รูปภาคผนวกที่ ค1 พีคของกราฟมาตรฐานสารคอร์ไดเซปินที่เวลาประมาณช่วงเวลา 11-12 นาที

3. การเตรียมสารและการวิเคราะห์สารอะดีโนซีน (Li *et al*., 2015)

3.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำดอกเห็ดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาตัดเอาเฉพาะส่วนที่เป็นดอกเห็ดไปชั่งเพื่อหา น้ำหนักก่อนอบ แล้วนำไปอบในเครื่องอบความร้อนแบบสุญญากาศ (vacuum oven) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักหลังอบ คำนวณหาร้อยละความชื้น อัตราผลผลิตมวลชีวภาพแห้งต่อโหล และจากนั้นนำมาบดโดยใช้เครื่องปั่นให้เป็นผงละเอียด นำมาร่อนผ่าน sieve ขนาด 200 เมท ถ้าขนาดอนุภาคยังมีขนาดใหญ่ก็นำไปปั่นซ้ำอีกครั้งจนมีขนาดเล็กผ่านตะแกรงร่อนได้หมด

3.2 ขั้นตอนการสกัด

การสกัดโดยใช้น้ำบริสุทธิ์สูงเป็นตัวทำละลายในอัตราส่วน 0.1:1 (ดอกเห็ดถั่งเช่าสี ทอง : น้ำบริสุทธิ์สูง) ชั่งดอกเห็ดถั่งเช่า จำนวน 0.1 กรัม เติมน้ำบริสุทธิ์สูงจำนวน 1 มิลลิลิตร แล้ว นำไปเข้าเครื่องเขย่าคลื่นเสียงความถี่สูงที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำสารสกัด ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แยกตะกอนกับส่วนใส จากนั้นนำส่วนใสไปกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมครอน ใส่ลงในขวดเก็บสารละลายขนาด 2 มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปฉีดหาสารสารอะดีโนซีนด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะ สูงโดยจะมีพีคของสารขึ้นที่ช่วงเวลา 9-10 นาที

3.2 การวิเคราะห์สารอะดีโนซีน

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้นด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์ C18 (ขนาด 3.5 ไมโครเมตร×250 มิลลิเมตร×4.6 มิลลิเมตร) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิคอลัมน์ 40 องศาเซลเซียส ฉีดตัวอย่างเข้าคอลัมน์ 0.1 ไมโครลิตร เฟสเคลื่อนที่ใช้เมทานอลต่อน้ำบริสุทธิ์อัตราส่วน 15:85 วิเคราะห์ด้วยระยะเวลาการฉีด 17 นาทีต่อตัวอย่าง แล้วทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารจากพื้นที่ใต้กราฟมาทำโครมาโตแกรมจะได้กราฟมาตรฐานสมการเส้นตรงของสารอะดีโนซีนมาตรฐาน จะได้สมการเส้นตรง คือ $Y= aX+b$ ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารคอร์ไดเซปินจากตัวอย่างที่ได้หลังจากคำนวณกราฟมาตรฐาน

4. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการ Pour plate

4.1 การเตรียมอาหาร PCA (Plate count agar)

ชั่งอาหาร PCA แบบผง 40 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

4.2 การเตรียมเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ

ชั่งเปปโตนปริมาณ 1 กรัม ละลายในน้ำ 1000 มิลลิลิตร แล้วดูดใส่หลอด ทดลองหลอดละ 4.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่างน้ำสับปะรดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ขวด duran ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1% ปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer จะได้สำรละลายตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 หรือ 10^{-1}

2. ปิเปตตัวอย่างน้ำสับปะรดจากข้อ 1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 4.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer จะได้สารละลายตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 หรือ 10^{-2} ทำซ้ำต่อไปจนได้ระดับการเจือจางที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เลือกปิเปตระดับความเจือจางที่เหมาะสม 3 ระดับ เช่น 10^{-3} 10^{-4} และ 10^{-5} มาทำการ pour plate โดยการปิเปตสารละลายตัวอย่างระดับความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยในแต่ละระดับความเจือจางจะทำ 3 ซ้ำ

4. ใช้แท่งแก้วปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วผิวหน้าอาหาร จากนั้นคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อลง

5. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

6. ตรวจนับโคโลนีเชื้อทั้งหมดในจานอาหารเพาะเชื้อเพื่อรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรตัวอย่าง

4.3 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม เติมน้ำกลั่นใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์และการคำนวณ

1.วิธีการคำนวณน้ำหนักแห้ง

1.ชั่งน้ำหนักถาดเปล่าที่อบ และบันทึกค่า

2.เก็บตัวอย่างเห็ดใส่ถาดและนำไปชั่งและบันทึกค่า (น้ำหนักถาดเปล่าและน้ำหนักเห็ด)

3.นำไปอบแห้งและบันทึกค่า

4.นำค่าที่ได้มาคำนวณตามสมการดังนี้

น้ำหนักแห้ง = น้ำหนักถาดที่มีเห็ดแห้งหลังอบ - น้ำถาดเปล่าหลังอบ

2.วิธีการคำนวณร้อยละความชื้น

1.พับกระดาษฟรอยด์เป็นกระทงแล้วนำไปอบ

2.ชั่งกระดาษฟรอยด์เปล่าหลังอบและบันทึกค่า

3.ชั่งน้ำหนักตัวอย่างก่อนนำไปอบแห้ง บันทึกค่าค่าและนำไปอบแห้ง

4.ชั่งน้ำหนักฟรอยด์พร้อมตัวอย่าวหลังอบแห้ง

5.นำค่าที่ได้มาคำนวณตามสมการดังนี้

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \text{น้ำหนักก่อนอบ} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ}}{\text{น้ำหนักก่อนอบ}} \times 100$$

3.วิธีการคำนวณปริมาณคอร์ไดเซปิน

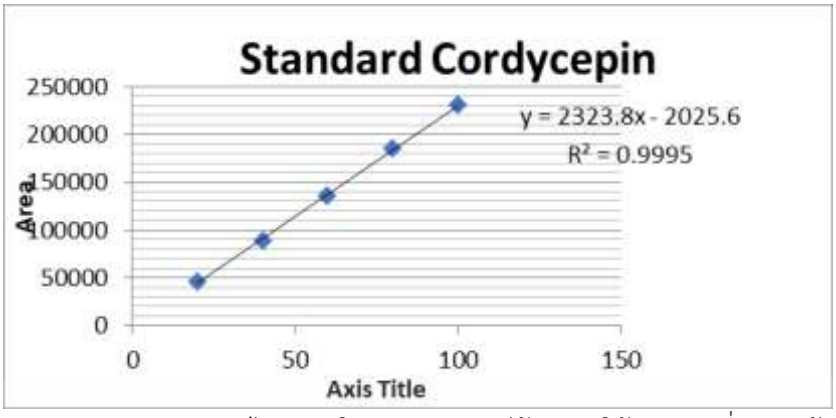
นำค่าโครมาโตแกรมที่ได้จากการสกัดตัวอย่างมาคำนวณหาปริมาณคอร์ไดเซปินโดยใช้สมการที่ได้จากกราฟความเข้มข้นมาตรฐานคอร์ไดเซปิน

$$Y = 2323.8X - 2025.6$$

โดย Y = ค่าจากคามาโตแกรม

X = ความเข้มข้นของคอร์ไดเซปิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ ง1 กราฟมาตรฐานคอร์ไดเซปินในการวิเคราะห์ด้วยการใช้ HPLC ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน คือ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อลิตร

ตารางภาคผนวกที่ ง1 ค่าโครมาโตแกรมของสารคอร์ไดเซปินในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

จำนวนซ้ำ	ค่าพื้นที่ใต้กราฟของโครมาโตแกรมของคอร์ไดเซปิน
1	817413
2	862423
3	847800

$$Y = 2323.8X - 2025.6$$

$$X = \frac{817413+2025.6}{2323.8}$$

$$X = 352.629 \text{ ไมโครกรัมต่อกรัม}$$

ใช้ตัวอย่างเห็ดต่อน้ำบริสุทธิ์สูง 0.1 กรัม : 1 มิลลิลิตร (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ดังนั้น ในตัวอย่างเห็ด 0.1 กรัม มีปริมาณสารคอร์ไดเซปิน 352.629 ไมโครกรัมต่อกรัม

ถ้าตัวอย่างเห็ด 1 กรัม มีปริมาณสารคอร์ไดเซปิน 3.52629 มิลลิกรัมต่อกรัม

$$Y = 2323.8X - 2025.6$$

$$X = \frac{862423+2025.6}{2323.8}$$

$$X = 371.998 \text{ ไมโครกรัมต่อกรัม}$$

ใช้ตัวอย่างเห็ดต่อน้ำบริสุทธิ์สูง 0.1 กรัม : 1 มิลลิลิตร (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ดังนั้น ในตัวอย่างเห็ด 0.1 กรัม มีปริมาณสารคอร์ไดเซปิน 371.998 ไมโครกรัมต่อกรัม

ถ้าตัวอย่างเห็ด 1 กรัม มีปริมาณสารคอร์ไดเซปิน 3.71998 มิลลิกรัมต่อกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$Y = 2323.8X - 2025.6$$

$$X = \frac{847800+2025.6}{2323.8}$$

$$X = 365.705 \text{ ไมโครกรัมต่อกรัม}$$

ใช้ตัวอย่างเห็ดต่อน้ำบริสุทธิ์สูง 0.1 กรัม : 1 มิลลิลิตร (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ดังนั้น ในตัวอย่างเห็ด 0.1 กรัม มีปริมาณสารคอร์ไดเซปิน 365.705 ไมโครกรัมต่อกรัม

ถ้าตัวอย่างเห็ด 1 กรัม มีปริมาณสารคอร์ไดเซปิน 3.65705 มิลลิกรัมต่อกรัม

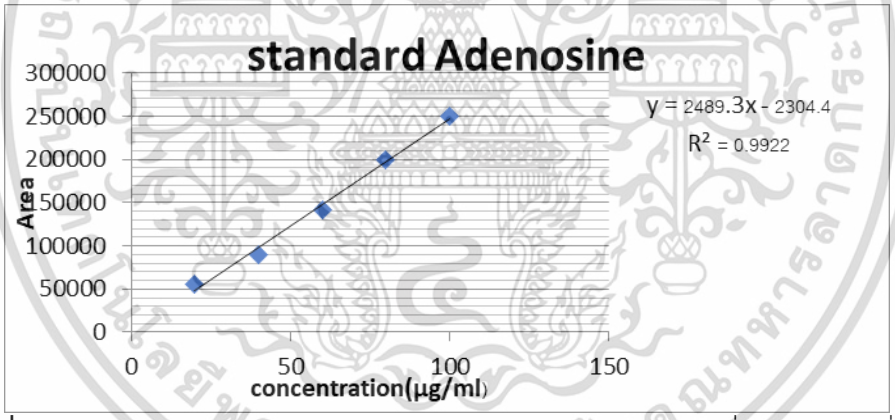
4.วิธีการคำนวณปริมาณอะดีโนซีน

นำค่าโครมาโตแกรมที่ได้จากการสกัดตัวอย่างมาคำนวณหาปริมาณอะดีโนซีนโดยใช้สมการที่ได้จากกราฟความเข้มข้นมาตรฐานอะดีโนซีน

$$Y = 2323.8X - 2025.6$$

โดย Y = ค่าจากโครมาโตแกรม

X = ความเข้มข้นของอะดีโนซีน



รูปภาคผนวกที่ ง2 กราฟมาตรฐานอะดีโนซีนในการวิเคราะห์ด้วยการใช้ HPLC ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน คือ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อลิตร

ตารางภาคผนวกที่ ง2 ค่าโครมาโตแกรมของสารอะดีโนซีนในการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทอง

จำนวนซ้ำ	ค่าพื้นที่ใต้กราฟของโครมาโตแกรมของอะดีโนซีน
1	498027
2	546213
3	518690

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$Y = 2489.3 - 2304.4$$

$$X = \frac{498027+2304.4}{2489.3}$$

X = 200.993 ไมโครกรัมต่อกรัม

ใช้ตัวอย่างเห็ดต่อน้ำบริสุทธิ์สูง 0.1 กรัม : 1 มิลลิลิตร (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ดังนั้น ในตัวอย่างเห็ด 0.1 กรัม มีปริมาณสารอะดีโนซีน 200.993 ไมโครกรัมต่อกรัม

ถ้าตัวอย่างเห็ด 1 กรัม มีปริมาณสารอะดีโนซีน 2.00993 มิลลิกรัมต่อกรัม

Y = 2323.8X - 2025.6

$$X = \frac{546213+2304.4}{2489.3}$$

X = 220.35 ไมโครกรัมต่อกรัม

ใช้ตัวอย่างเห็ดต่อน้ำบริสุทธิ์สูง 0.1 กรัม : 1 มิลลิลิตร (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ดังนั้น ในตัวอย่างเห็ด 0.1 กรัม มีปริมาณสารอะดีโนซีน 220.35 ไมโครกรัมต่อกรัม

ถ้าตัวอย่างเห็ด 1 กรัม มีปริมาณสารอะดีโนซีน 2.2035 มิลลิกรัมต่อกรัม

Y = 2323.8X - 2025.6

$$X = \frac{518690+2304.4}{2489.3}$$

X = 209.294 ไมโครกรัมต่อกรัม

ใช้ตัวอย่างเห็ดต่อน้ำบริสุทธิ์สูง 0.1 กรัม : 1 มิลลิลิตร (น้ำหนักต่อปริมาตร)

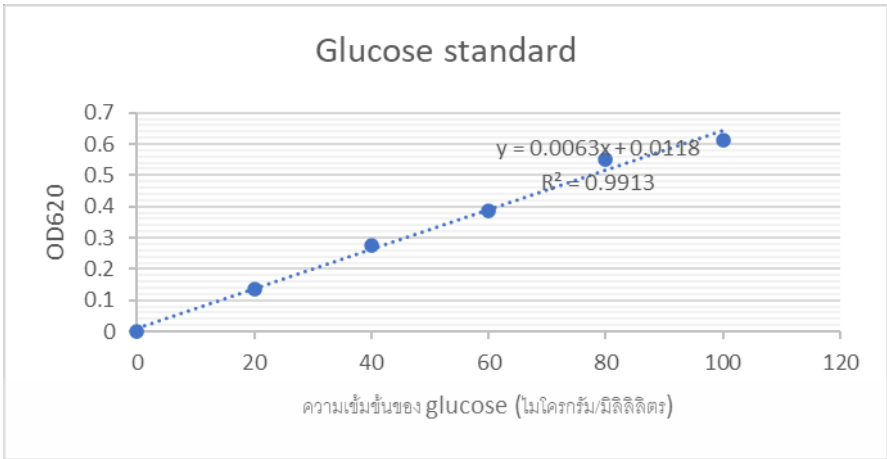
ดังนั้น ในตัวอย่างเห็ด 0.1 กรัม มีปริมาณสารอะดีโนซีน 209.294 ไมโครกรัมต่อกรัม

ถ้าตัวอย่างเห็ด 1 กรัม มีปริมาณสารอะดีโนซีน 2.09294 มิลลิกรัมต่อกรัม

5.วิธีการคำนวณพอลิแซ็กคาไรด์

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตรที่ได้จากการสกัดตัวอย่างมาคำนวณหาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์โดยใช้สมการที่ได้จากกราฟความเข้มข้นมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพภาคผนวกที่ ง3 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร

$$Y = 0.0063X + 0.0118$$

โดย Y= ค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร

X= ความเข้มข้นของกลูโคสในหน่วยไมโครกรัมต่อลิตร

ตารางภาคผนวกที่ ง3 ค่า OD ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตรในการหาปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ในเห็ดถั่งเช่าสีทอง

จำนวนซ้ำ	ค่า OD_{620} × ค่าการเจือจาง
1	45.133
2	42.800
3	40.367

แทนค่า Y=0.0063X+0.0118

$$X = \frac{45.133 - 0.0118}{0.0063}$$

X = 7162.148 ไมโครกรัมต่อลิตร

ดังนั้น ในตัวอย่างเห็ด 0.4 กรัม มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ 7162.148 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ถ้าตัวอย่างเห็ด 1 กรัม มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ 17.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

$$X = \frac{42.800 - 0.0118}{0.0063}$$

X = 6791.778 ไมโครกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ในตัวอย่างเห็ด 0.4 กรัม มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ 6791.778 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ถ้าตัวอย่างเห็ด 1 กรัม มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ 16.979 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

$$X = \frac{\mathbf{40.367-0.0118}}{\mathbf{0.0063}}$$

X = 6405.534 ไมโครกรัมต่อลิตร

ดังนั้น ในตัวอย่างเห็ด 0.4 กรัม มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ 6405.534 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ถ้าตัวอย่างเห็ด 1 กรัม มีปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ 16.014 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

รูปภาคผนวกที่ ง4 กราฟโครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีสมรรถนะสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ
การวิเคราะห์ทางเคมีไวน์สับปะรด

1.การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดแสดงในรูปขององศาบริกซ์ โดยวิธีของ AOAC (1990)

วิธีการวิเคราะห์

นำตัวอย่างน้ำสับปะรดหมักในแต่ละการทดลองมาทำการตรวจวัดการทดลองละ 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย ± sd

2.การวิเคราะห์ความเป็นกรดทั้งหมด (AOAC, 1990)

วิธีการวิเคราะห์

ปิเปตน้ำสับปะรดหมักมา 10 มิลลิลิตร ใส่ลง flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปลอดคาร์บอน 90 มิลลิลิตร หยดฟีนล์อฟทาลีนลงไป 2-3 หยด แล้วนำไปไทเทรตด้วย สารละลายด่างมาตรฐาน (โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N) จนถึงจุดยุติสีชมพู บันทึกปริมาตรของสารละลายด่างวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย ± sd

การคำนวณ

$$\% \text{ กรดซิตริก} = \times \frac{N(V1) \times \text{น้ำหนักอิควิวาเลนต์ } (equivalent\ weight) \text{ของกรดซิตริก}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง } \times 10}$$

โดย V1 เป็นปริมาตรของสารละลาย NaOH จากการไทเทรต

V2 ปริมาตรของตัวอย่าง

M เป็นความเข้มข้นของสารละลาย NaOH ในหน่วย mol/L

3.การวิเคราะห์หาความเป็นกรด-ด่าง(ค่าpH)

วัดค่าพีเอช โดยวิธี AOAC

วิธีการวิเคราะห์

นำตัวอย่างน้ำสับปะรดหมัก 20 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร วัดค่าพีเอชโดยเครื่องพีเอชมิเตอร์วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย ± sd

4.การหาปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำสับปะรดหมักโดยเครื่อง Ebulliometer

วิธีการวิเคราะห์

1.การวัดจุดเดือดของน้ำ

1.1 เตรียมตะเกียงแอลกอฮอลล์

1.2 ล้าง Boiler ให้ทั่วแล้วเทน้ำออกผ่านทางท่อ

1.3 ตวงน้ำกลั่นให้ถึงขีด EAU (น้ำ) หรือปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่าง (A) ใส่เทอร์โมมิเตอร์ (C) ให้ปลายอยู่เหนือน้ำ

1.4 จุดตะเกียงวางแอลกอฮอล (B) ทำการต้มจนจุดเดือดมีอุณหภูมิคงที่ อ่านค่าอุณหภูมิของน้ำบริสุทธิ์จากเทอร์โมมิเตอร์ (C) ให้ปลายอยู่เหนือน้ำ

2.การวัดปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1 เปิดก๊อกให้น้ำออกให้หมดล้างด้วยไวน์ที่จะทำการทดสอบอีกครั้งแล้วเทไวน์ที่ล้างออกให้หมด

2.2 เติมไวน์ที่ทดสอบประมาณ 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่างแล้วใส่เทอร์โมมิเตอร์

2.3 เติมน้ำเย็นลงไปในส่วนที่ควบแน่น (D)

2.4 จุดตะเกียงเพื่อต้มตัวอย่าง อ่านค่าจุดเดือดของไวน์ที่ทดสอบ

2.5 อ่านค่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ของไวน์ (ดูสเกลด้านนอก;แผ่นล่าง) ที่อยู่ตรงกับจุดเดือดของไวน์ (ดูสเกลด้านใน; แผ่นบน) จากแผ่นอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

2.6 ตัวอย่างเช่น ถ้าอ่านจุดเดือดไวน์ได้ 90.7 องศาเซลเซียส ให้ดูแผ่นวงกลมบนตรงกับ 90.7 องศาเซลเซียส จะตรงกับแผ่นล่าง 13.5% แอลกอฮอล์

รูปภาคผนวกที่ จ1 เครื่อง Ebulliometer และแผ่นอ่านค่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ
วิธีการใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถภาพสูง (HPLC)

1.ต่อคอลัมน์ตามแนวลูกศร (สายพลาสติกทั้งบนล่าง)

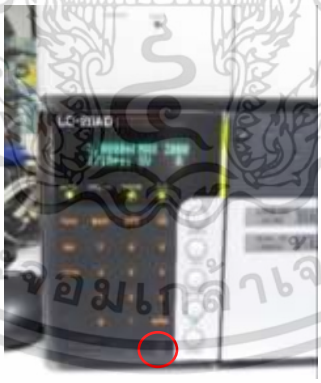
2.การเตรียมเฟสเคลื่อนที่

กำหนด A คือ น้ำ

กำหนด B คือ เมทานอล

3.การเปิดเครื่องโครมาโทกราฟีเหลวสมรรถนะส

4.การเตรียมเครื่องโคมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (Purge Mobile phase)



- กดที่วงกลมสีแดง
- กด back 2 ครั้ง จะขึ้น 0.000 system กด enter จากนั้นเปลี่ยน 0 เป็น 1 กด enter แล้วกด cone
- ทำการล้าง A โดยปรับให้ A เป็น 100 ส่วน B C D เป็น 0 และenter ที่ line B C D ตามลำดับ
- จากนั้นเปิกวาลหมุนทางด้าน open 90 องศา (ปิดวาล หมุนไปทางด้าน close 90 องศา) จากแนวตั้งให้เป็นแนวนอน
- กดปุ่ม purge ที่ pump รอจน purge เสร็จ ประมาณ 3 นาที แล้วกดปุ่ม cone
- ทำการล้างสาย B โดยปรับให้เป็น 100 ส่วน A C D เป็น 0 กดปุ่ม enter

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กดปุ่ม purge รอจน purge เสร็จ ประมาณ 3 นาทีจึงทำการปิดวาล
- กด back 2 ครั้ง (0.000 system)
- กด enter (0.000 Local) จากนั้นเปลี่ยนจาก 1 เป็น 0 กด

5.การ purge auto sample

- กด ของ SIL-20A (วงกลมสีแดง) ประมาณ 25 นาที

6.การเปิดโปรแกรม

- เปิดคอมพิวเตอร์ คลิกที่โปรแกรม LC solution คลิปอันที่ 1 กด ok

7.การเปิด method

- กด file และ open เลือกชื่อไฟล์
- กด download เปลี่ยน tatal Flow ให้เป็น 0
- กด lnstrument รอให้อุณหภูมิถึง 40 องศาเซลเซียส ตรง LC จะขึ้นคำว่า Ready
- หลังจากนั้นปรับ B cone เท่ากับ 100% เป็นเวลาประมาณ 30 นาที หากคนก่อนหน้าฉีดสารที่แตกต่างตากเรา ควรใช้เวลาประมาณ 45-60 นาที พร้อมปรับ Total Flow ทีละ 0.2 จนถึง 1.0
- พอครบเวลา 30 นาที ปรับ B cone เท่ากับ 15
- กด plot และดูว่าเส้นคงที่หรือไม่

8.การฉีดสารแบบ Batch

- คลิก Windows จากนั้น show Window จากนั้น Batch table
- New Batch file
- Edit จากนั้น table easy setting
- ใส่ตัวอย่าง viral และ ชื่อไฟล์ กด ok นอกนั้นกด 1
- เปลี่ยน sample name
- save atch file AS เลือกที่อยู่เดียวกับ method
- Batch start

9.การเปิดข้อมูลและสั่งพิมพ์ข้อมูล

- กดเลือกข้อมูลที่ต้องการจากโฟลเดอร์ เลือกข้อมูลที่ต้องการจะปรากฏหน้าด้านข้างเลือก backup/HPLC/report จากนั้นเลือก LC peak table (PDA)
- กดเลือกไอคอนด้านล่าง เพื่อเลือดไฟล์งานขึ้นมา จากนั้นจะปรากฏห
- กด edit เพอ่มสารที่ต้องการ เปลี่ยน name และ ret name จากนั้น view
- กดหน้า report.จากนั้นปริ้นข้อมูลออกมา

10.การปิดเครื่อง

- เปลี่ยน B cone เท่ากับ 100% รอ 30 นาที
- ค่อยๆลด Total flow ลงที่ละ 0.2 จาก 1.0 จนเหลือ 0.0
- กด lnstrument

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- File จากนั้นกด exit จากนั้น ok
- ปิดเครื่อง

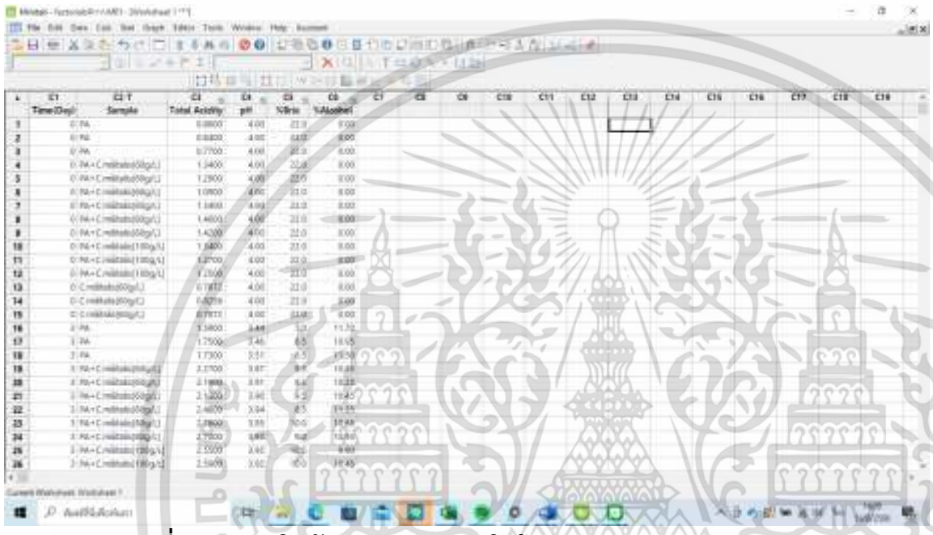
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช

วิธีการวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติด้วยโปรแกรม Minitap

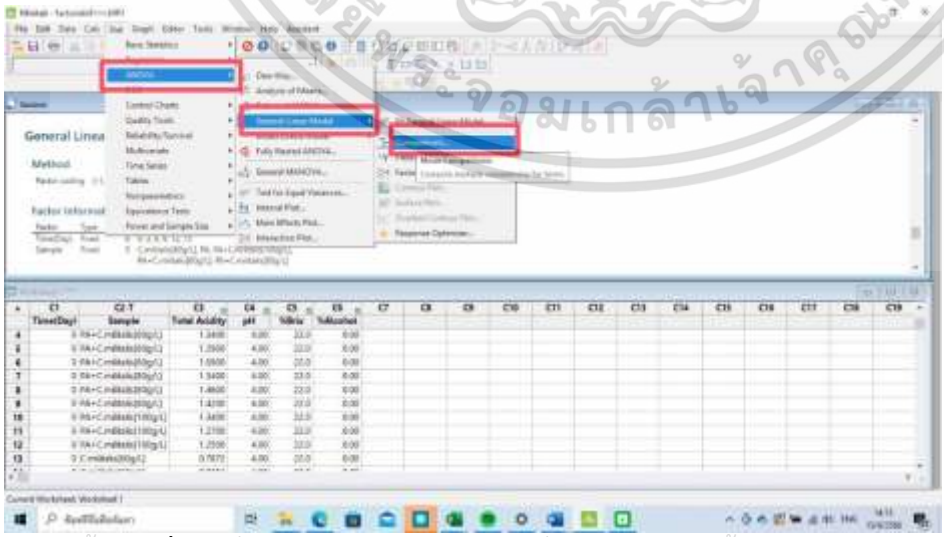
1. เปิดโปรแกรม Minitab

จากนั้นกรอกข้อมูลได้แก่ ปัจจัยต่างๆ (สิ่งที่เราแปรผัน) เช่น เวลาการแช่ ได้แก่ 1, 2, และ 3 นาทีเป็นต้น และกรอกผลการทดลอง ค่าที่วิเคราะห์ ค่าจากการคำนวณอาจจะมีหลายผลการทดลอง ในปัจจัยนั้น ดังตัวอย่าง (ผลการทดลองของแต่ละปัจจัยต้องมีข้อมูลอย่างน้อย 3 ซ้ำ)



รูปภาคผนวกที่ ช1 การใส่ข้อมูลตัวอย่างลงในโปรแกรม

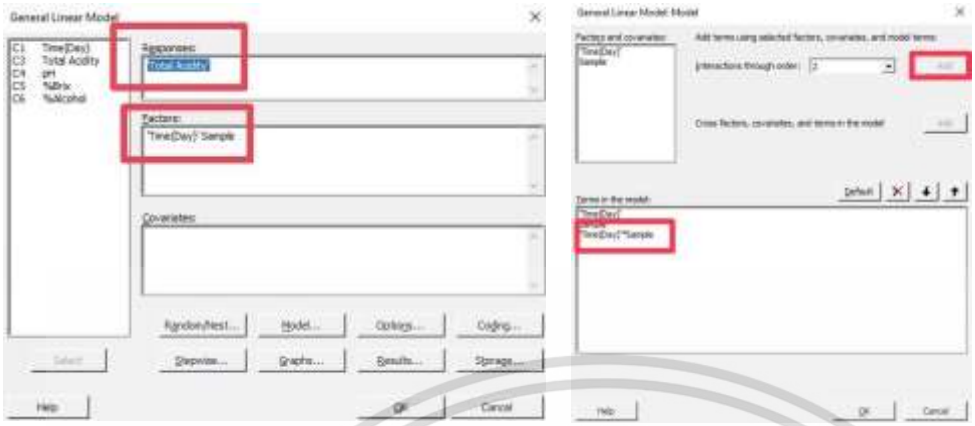
2.จากนั้นคำนวณโดยเลือกเมนู Stat ไปที่ ANOVA เลือก General Linear Model แล้วเลือก Fit General Linear Model



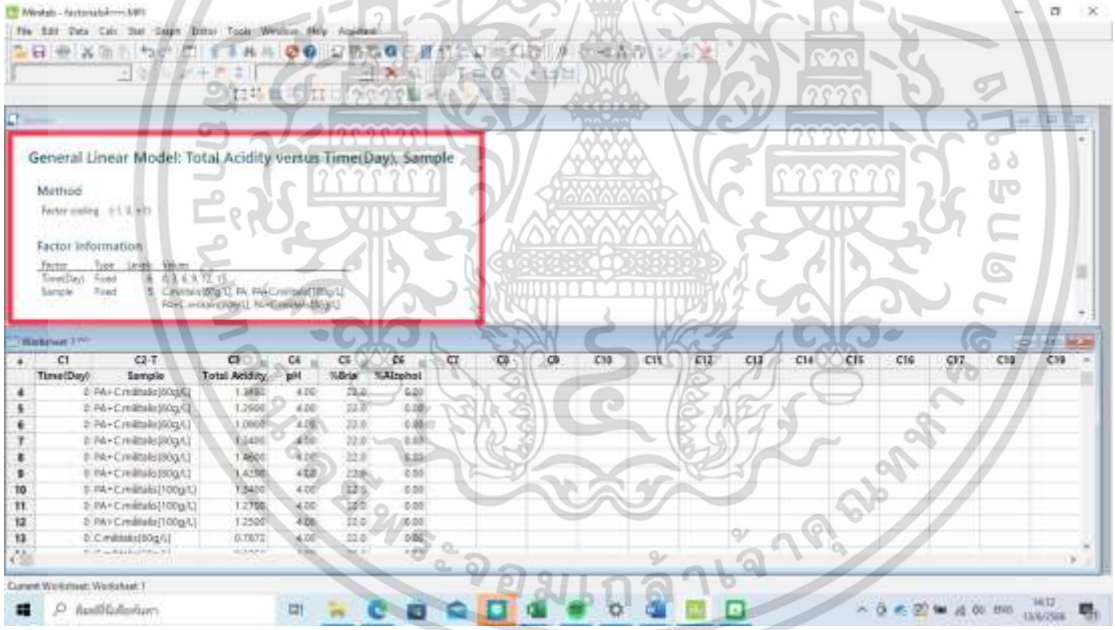
รูปภาคผนวกที่ ช2 การเปรียบเทียบเชิงซ้อนของตัวอย่าง

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แล้วเลือกตัวอย่างที่เราต้องการคำนวณ และเลือกปัจจัยที่ต้องการในช่อง Factors ดังรูป



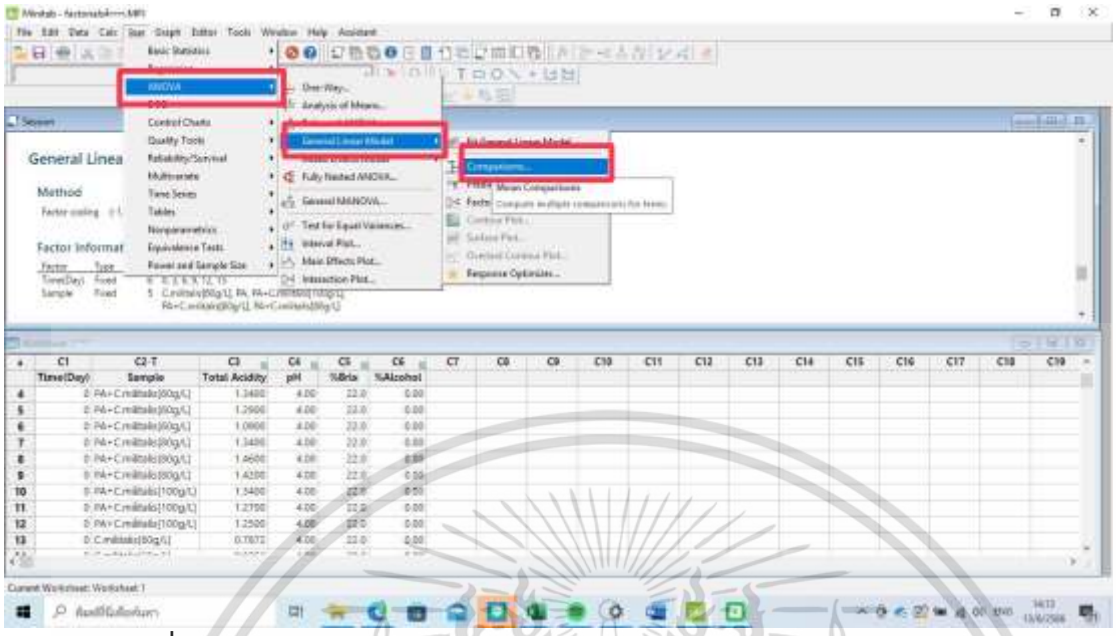
รูปภาคผนวกที่ ช3 วิธีการใช้โปรแกรมคำนวณทางสถิติ



รูปภาคผนวกที่ ช4 รูปแบบการแสดงผลทางสถิติ

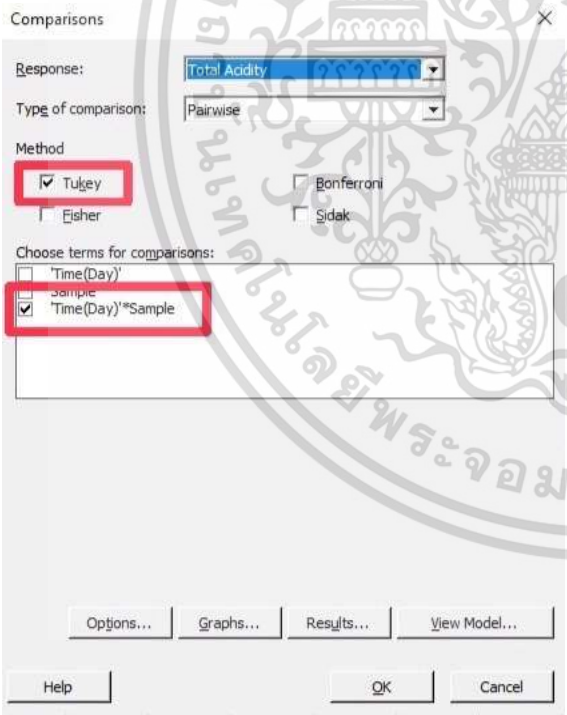
5.จากนั้นหาการเปรียบเทียบเชิงซ้อน โดยเลือกเมนู Stat ไปที่ Anova เลือก General Linear Model แล้วเลือก Comparisons ดังรูปภาคผนวกที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ ช5 วิธีการเปรียบเทียบเชิงซ้อนแบบ 2 ปัจจัย

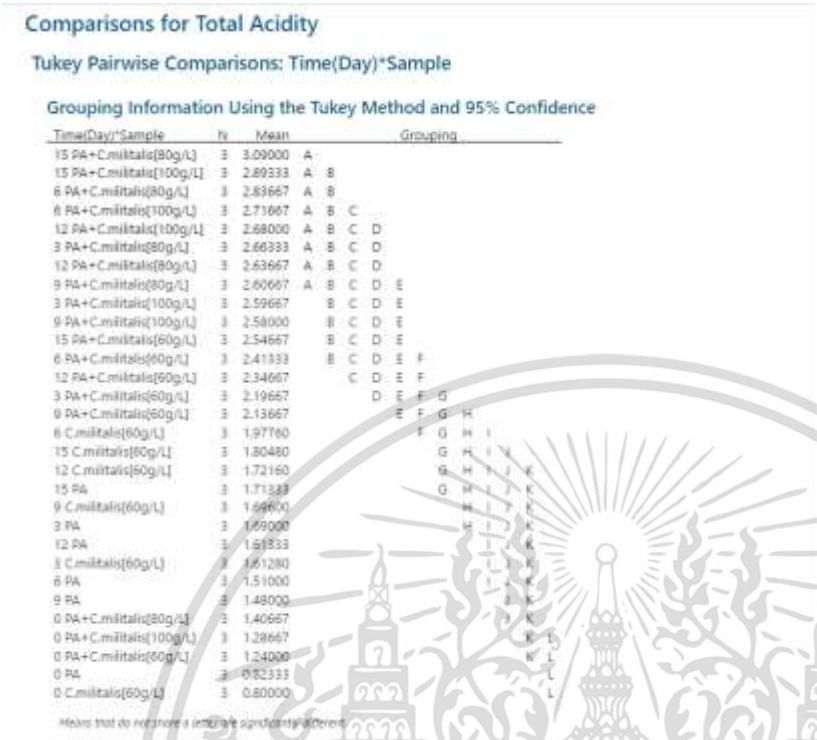
เลือกโปรแกรม TUKEY METHOD'S



รูปภาคผนวกที่ ช6 วิธีการเปรียบเทียบเชิงซ้อนด้วย Tukey method's แบบ 2 ปัจจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9.ได้ผลการเปรียบเทียบแบบกลุ่มออกมา



Comparisons for Total Acidity

Tukey Pairwise Comparisons: Time(Day)*Sample

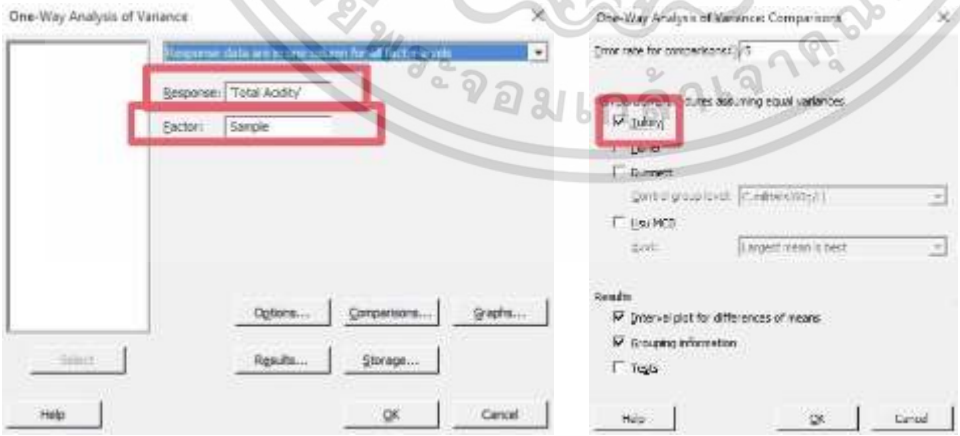
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Time(Day)*Sample	N	Mean	Grouping
15 PA+C.militalis(80g/L)	3	3.09000	A
15 PA+C.militalis(100g/L)	3	2.89333	A B
6 PA+C.militalis(80g/L)	3	2.83667	A B
6 PA+C.militalis(100g/L)	3	2.71667	A B C
12 PA+C.militalis(100g/L)	3	2.68000	A B C D
3 PA+C.militalis(80g/L)	3	2.66333	A B C D
12 PA+C.militalis(80g/L)	3	2.63667	A B C D
9 PA+C.militalis(80g/L)	3	2.60667	A B C D E
3 PA+C.militalis(100g/L)	3	2.59667	B C D E
9 PA+C.militalis(100g/L)	3	2.58000	B C D E
15 PA+C.militalis(60g/L)	3	2.54667	B C D E
6 PA+C.militalis(60g/L)	3	2.41333	B C D E F
12 PA+C.militalis(60g/L)	3	2.34667	C D E F
3 PA+C.militalis(60g/L)	3	2.19667	D E F G
9 PA+C.militalis(60g/L)	3	2.13667	E F G H
6 C.militalis(60g/L)	3	1.97760	F G H I
15 C.militalis(60g/L)	3	1.80480	G H I J
12 C.militalis(60g/L)	3	1.72160	G H I J K
15 PA	3	1.71333	G H I J K
9 C.militalis(60g/L)	3	1.68600	H I J K
3 PA	3	1.69000	H I J K
12 PA	3	1.61833	I J K
3 C.militalis(60g/L)	3	1.61280	I J K
6 PA	3	1.51000	J K
9 PA	3	1.48000	J K
0 PA+C.militalis(80g/L)	3	1.40667	J K
0 PA+C.militalis(100g/L)	3	1.28667	K L
0 PA+C.militalis(60g/L)	3	1.24000	K L
0 PA	3	0.82333	L
0 C.militalis(60g/L)	3	0.80000	L

Means that do not share a letter are significantly different.

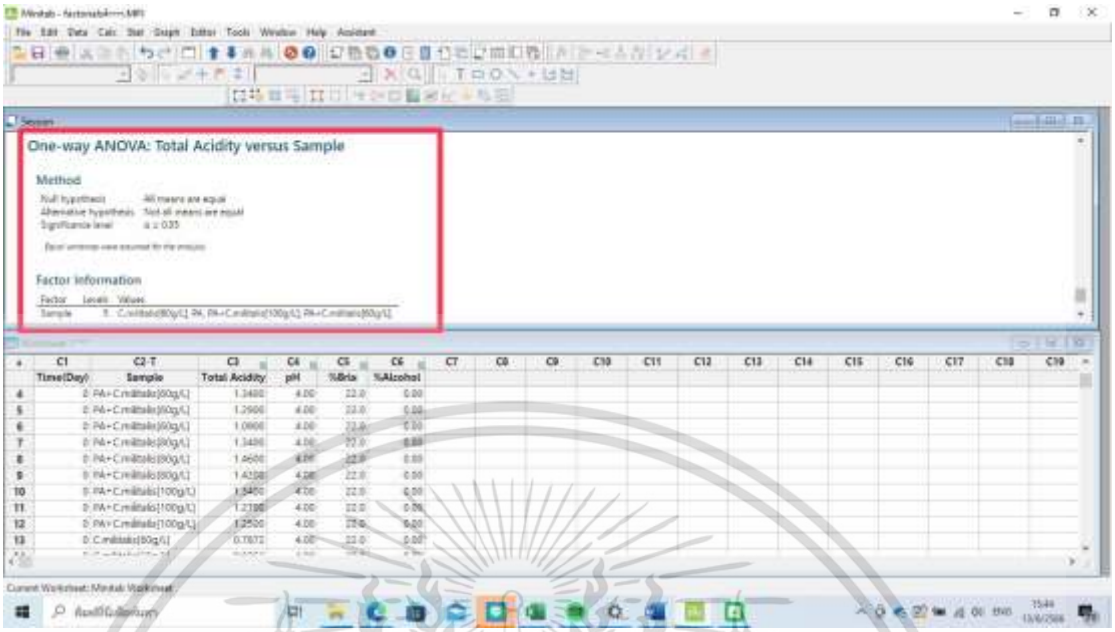
รูปภาคผนวกที่ ช7 ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อนทางสถิติแบบ 2 ปัจจัย

ในกรณีที่ปีนการคำนวณทางสถิติแบบ CRD ANOVA one way ANOVA ดังรูปภาคผนวกที่จ-7 จากนั้นเลือกข้อมูลตัวอย่างลงใน responses และปัจจัย factor จากนั้นกด comparison แล้วเลือก tukey จากนั้น กด ok แล้วกด ok อีกครั้ง ผลก็จะแสดงขึ้นที่วินโดว์ ดังรูปภาคผนวกที่ จ-9



รูปภาคผนวกที่ ช8 การคำนวณค่าสถิติและการเปรียบเทียบเชิงซ้อนแบบ CRD

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ ช9 ผลการคำนวณและเปรียบเทียบเชิงซ้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ
ข้อกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของไวน์ผลไม้

มผช.๒/๒๕๔๖

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน
ไวน์ผลไม้

๑. ขอบข่าย

๑.๑ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ไม่ครอบคลุมถึงสุราแช่ชนิดเบียร์ และสุราแช่อื่นที่ได้มีการกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนขึ้น

๒. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ มีดังต่อไปนี้

๒.๑ ไวน์ผลไม้ หมายถึง สุราแช่ชนิดหนึ่ง ซึ่งทำจากการนำวัตถุดิบจำพวกผลไม้หรือน้ำผลไม้มาผ่านกรรมวิธีการผลิตไวน์ผลไม้ มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน ๑๔ ดีกรี/ร้อยละโดยปริมาตร หากมีการผสมสุรากลั่นต้องมีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน ๑๕ ดีกรี/ร้อยละโดยปริมาตร

๒.๒ สุราแช่ หมายถึง สุราที่ไม่ได้กลั่น และให้หมายรวมถึงสุราแช่ที่ได้ผสมกับสุรากลั่นแล้ว แต่ยังมีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน ๑๕ ดีกรี/ร้อยละโดยปริมาตร

๒.๓ กรรมวิธีการผลิตไวน์ผลไม้ หมายถึง การหมักผลไม้และ/หรือน้ำผลไม้ด้วยยีสต์เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ซึ่งหมักไว้ระยะหนึ่งจะเป็นสุราแช่ หากมีการบ่มหมักต่ออีกระยะหนึ่งจะให้รสชาติที่นุ่มละมุน ในการผลิตอาจมีการเติมน้ำตาลทรายขาวเพื่อเพิ่มความหวานให้เหมาะกับการหมักสุราแช่ เพื่อให้ได้แรงแอลกอฮอล์ตามต้องการ

๒.๔ ยีสต์ หมายถึง จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่ใช้ในการหมักสุราแช่ มีหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลในผลไม้และ/หรือน้ำผลไม้ให้เป็นแอลกอฮอล์ และยังทำหน้าที่ผลิตสารระเหยบางชนิดออกมาทำให้ได้กลิ่นและรสชาติที่เฉพาะกลมกล่อม ยีสต์ส่วนใหญ่ที่ใช้หมักเป็น แซคคาโรมายซีส (*Saccharomyces spp.*) และอาจมีการใช้ยีสต์หลายสายพันธุ์ผสมกันเพื่อใช้หมักก็ได้ทำให้รสชาติ คุณภาพ ดีขึ้น

๒.๕ ผลไม้และ/หรือน้ำผลไม้ หมายถึง ผลไม้และ/หรือน้ำผลไม้ทุกชนิดที่นำมาผลิตให้กลิ่น สี รสชาติ และคุณภาพตามที่ต้องการ

๓. คุณลักษณะที่ต้องการ

๓.๑ คุณลักษณะทางเคมี

๓.๑.๑ แรงแอลกอฮอล์ต้องไม่เกิน ๑๕ ดีกรี/ร้อยละโดยปริมาตร และมีเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนจากที่ระบุไว้ที่ฉลากได้ไม่เกิน ± ๑ ดีกรี/ร้อยละโดยปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๓.๑.๒ เมทิลแอลกอฮอล์ ต้องไม่เกิน ๔๒๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

๓.๑.๓ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน ๓๐๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

๓.๑.๔ กรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก(คำนวณเป็นกรดซอร์บิก) ต้องไม่เกิน ๒๐๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

๓.๑.๕ กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก(คำนวณเป็นกรดเบนโซอิก) ต้องไม่เกิน ๒๕๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

๓.๑.๖ ทองแดง ต้องไม่เกิน ๕ มิลลิกรัมต่อลิตร

๓.๑.๗ เหล็ก ต้องไม่เกิน ๑๕ มิลลิกรัมต่อลิตร

๓.๑.๘ ตะกั่ว ต้องไม่เกิน ๐.๒ มิลลิกรัมต่อลิตร

๓.๑.๙ สารหนู ต้องไม่เกิน ๐.๑ มิลลิกรัมต่อลิตร

๓.๑.๑๐ เฟอร์โรไซยาไนด์ ต้องไม่พบ

๓.๒ คุณลักษณะทางกายภาพ

๓.๒.๑ ความใส

ใสตามลักษณะของไวน์ผลไม้

๓.๒.๒ สี

มีสีเป็นไปตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ และเป็นไปตามที่ระบุไว้ที่ฉลาก

๓.๒.๓ กลิ่น

ต้องมีกลิ่นหอมของผลไม้หรือน้ำผลไม้ที่นำมาผลิตไวน์ผลไม้ตามที่ระบุไว้ที่ฉลาก และไม่มีกลิ่นน้ำส้มสายชูหรือกลิ่นอื่นๆ ที่ไม่พึงประสงค์ปรากฏเด่นชัด

๓.๒.๔ รสชาติ

มีความเป็นกรด หวาน ฝาด เปรี้ยน และกลมกล่อม ตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ

๓.๒.๕ คุณภาพโดยรวมของไวน์ผลไม้

มีความใส สี กลิ่น และรสชาติ เป็นที่ยอมรับ

เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ ๔.๒ แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคนไม่น้อยกว่าร้อยละ ๖๐ และไม่มีลักษณะใดได้น้อยกว่าร้อยละ ๓๐ ของคะแนนเต็ม จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

๓.๓ สิ่งแปลกปลอม

ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่วัตถุดิบที่ใช้ทำ

๓.๔ ความเสถียร

ต้องไม่ปรากฏฟองในภาชนะบรรจุอันเนื่องมาจากการหมักซ้ำ

๔. สุขลักษณะ

๔.๑ สุขลักษณะในการทำไวน์ผลไม้ ให้เป็นไปตามคำแนะนำตามภาคผนวก ก.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๕. การบรรจุ

๕.๑ ให้บรรจุไวน์ผลไม้ในภาชนะบรรจุที่เหมาะสม สะอาด แห้ง ปิดได้สนิท และไม่ทำปฏิกิริยากับไวน์ผลไม้ที่บรรจุอยู่

๕.๒ ขนาดบรรจุของไวน์ผลไม้ในแต่ละภาชนะบรรจุต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก

๖. เครื่องหมายและฉลาก

๖.๑ ที่ภาชนะบรรจุไวน์ผลไม้ทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมี เลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้ ให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน

(๑) ชื่อเรียกผลิตภัณฑ์ เช่น ไวน์องุ่น ไวน์มังคุด ไวน์เม่า

(๒) แรงแอลกอฮอล์ เป็นดีกรี หรือ ร้อยละโดยปริมาตร

(๓) ขนาดบรรจุ

(๔) ส่วนประกอบหลัก หรือวัตถุดิบที่ใช้ทำ

(๕) คำเตือนตามกฎหมายที่เกี่ยวข้องกำหนด เช่น การดื่มสุราทำให้ความสามารถในการขับขี่ยานพาหนะลดลง

(๖) วัน เดือน ปีที่บรรจุ

(๗) ชื่อผู้ทำ หรือสถานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน

ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น ยกเว้นข้อ (๔) ต้องเป็นภาษาไทย

๗. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

๗.๑ รุ่น ในที่นี้ หมายถึง ไวน์ผลไม้ที่ทำจากวัตถุดิบและกรรมวิธีเดียวกัน ที่ทำหรือซื้อขายหรือส่งมอบในระยะเวลาเดียวกัน

๗.๒ การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้

๗.๒.๑ การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบคุณลักษณะทางเคมี สิ่งแปลกปลอม ความเสถียรการบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันจำนวน ๑ หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๓.๑ ข้อ ๓.๓ ข้อ ๓.๔ ข้อ ๕. และข้อ ๖. จึงจะถือว่าไวน์ผลไม้รุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๗.๒.๒ การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบคุณลักษณะทางกายภาพ ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันจำนวน ๔ หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๓.๒ จึงจะถือว่าไวน์ผลไม้รุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๗.๓ เกณฑ์ตัดสิน

ตัวอย่างไวน์ผลไม้ต้องเป็นไปตามข้อ ๗.๒.๑ และข้อ ๗.๒.๒ ทุกข้อ จึงจะถือว่าไวน์ผลไม้รุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มผช.๒/๒๕๔๖

๘. การทดสอบ

๘.๑ การทดสอบคุณลักษณะทางเคมี และขนาดบรรจุ ให้ปฏิบัติตามวิธีวิเคราะห์ที่หน่วยตรวจสอบใช้ปฏิบัติอยู่เป็นประจำ

๘.๒ การทดสอบคุณลักษณะทางกายภาพ

๘.๒.๑ ให้แต่งตั้งคณะผู้ตรวจสอบ ๑๐ คน และแต่ละคนจะแยกกันตรวจและให้คะแนนโดยอิสระ

๘.๒.๒ คุณสมบัติของคณะผู้ตรวจสอบ ให้เป็นไปตามภาคผนวก ข.

๘.๒.๓ หลักเกณฑ์การให้คะแนน ให้เป็นไปตามภาคผนวก ค.

๘.๓ การทดสอบสิ่งแปลกปลอม ความเสถียร ภาชนะบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก ให้ตรวจพินิจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

สุขลักษณะ

(ข้อ ๔.๑)

ก.๑ สถานที่ตั้งและอาคารผลิต

ก.๑.๑ สถานที่ตั้งตัวอาคารและที่ใกล้เคียง ควรอยู่ในที่ที่จะไม่ทำให้ไวน์ผลไม้ที่ผลิตเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย โดย

ก.๑.๑.๑ สถานที่ตั้งตัวอาคารและบริเวณโดยรอบ สะอาด ไม่มีน้ำขังแฉะและสกปรก

ก.๑.๑.๒ ควรอยู่ห่างจากบริเวณหรือสถานที่ที่มีฝุ่นมากผิดปกติ

ก.๑.๑.๓ ไม่ควรอยู่ใกล้เคียงกับสถานที่น่ารังเกียจ

ก.๑.๒ อาคารผลิตมีขนาดเหมาะสม มีการออกแบบและก่อสร้างในลักษณะที่ง่ายแก่การบำรุงรักษา การทำความสะอาด และสะดวกในการปฏิบัติงาน โดย

ก.๑.๒.๑ พื้น ฝาผนัง และเพดานของอาคารสถานที่ผลิต ควรก่อสร้างด้วยวัสดุที่คงทน ทำความสะอาดและซ่อมแซมให้อยู่ในสภาพที่ดีตลอดเวลา

ก.๑.๒.๒ ควรแยกบริเวณผลิตไวน์ผลไม้ออกเป็นสัดส่วน ไม่ควรอยู่ใกล้ห้องสุขา ไม่ควรมีสิ่งของที่ไม่ใช้แล้วหรือไม่เกี่ยวข้องกับการผลิตอยู่ในบริเวณผลิต

ก.๑.๒.๓ พื้นที่ปฏิบัติงาน ควรมีบริเวณเพียงพอ แสงสว่าง และการระบายอากาศที่เหมาะสม

ก.๒ เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ในการผลิต

ก.๒.๑ ภาชนะหรืออุปกรณ์ในการผลิตที่สัมผัสกับไวน์ผลไม้ ทำจากวัสดุมีผิวเรียบ ไม่เป็นสนิม ไม่กัดกร่อนหรือทำปฏิกิริยากับไวน์ผลไม้ ล้างทำความสะอาดได้ง่าย

ก.๒.๒ เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้ สะอาด และเหมาะสมกับการใช้งาน ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อน ติดตั้งได้ง่าย มีปริมาณเพียงพอ รวมทั้งสามารถทำความสะอาดได้ง่ายและทั่วถึง

ก.๓ การควบคุมกระบวนการผลิต

ก.๓.๑ วัตถุดิบและส่วนผสมในการผลิตไวน์ผลไม้ สะอาด มีคุณภาพดี มีการล้างหรือทำความสะอาดก่อนนำไปใช้

ก.๓.๒ น้ำที่ใช้ในการผลิต สะอาด มีคุณภาพดี ให้ผ่านการต้มหรือกรองก่อนนำมาใช้ในการผลิตไวน์ผลไม้

ก.๓.๓ การผลิต การเก็บรักษา ขนย้าย และขนส่งไวน์ผลไม้ มีการป้องกันการปนเปื้อนและการเสื่อมเสียของไวน์ผลไม้

ก.๔ การสุขาภิบาล การบำรุงรักษา และการทำความสะอาด

ก.๔.๑ น้ำที่ใช้ล้างทำความสะอาดเครื่องมือ เครื่องจักร อุปกรณ์ และมือผู้ประกอบไวน์ผลไม้ เป็นน้ำสะอาดและมีปริมาณเพียงพอ

ก.๔.๒ มีวิธีการป้องกันและกำจัดสัตว์นำเชื้อ แมลงและฝุ่น ไม่ให้เข้าในบริเวณผลิตตามความเหมาะสม

ก.๔.๓ มีการกำจัดขยะ สิ่งสกปรก และน้ำทิ้ง อย่างเหมาะสม เพื่อไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนกลับลงสู่ไวน์ผลไม้

ก.๔.๔ สารเคมีที่ใช้ล้างทำความสะอาด และใช้กำจัดสัตว์นำเชื้อและแมลง ควรใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และเก็บแยกจากบริเวณที่ผลิตไวน์ผลไม้ เพื่อไม่ให้ปนเปื้อนลงสู่ไวน์ผลไม้ได้

ก.๕ บุคลากรและสุขลักษณะผู้ปฏิบัติงาน

ผู้ทำไวน์ผลไม้ทุกคนต้องรักษาความสะอาดส่วนบุคคลให้ดี เช่น สวมเสื้อผ้าที่สะอาด มีผ้าคลุมผมเพื่อป้องกันไม่ให้เส้นผมหล่นลงในอาหาร ไม่ไว้เล็บยาว และล้างมือให้สะอาดก่อนสัมผัสไวน์ผลไม้ทุกครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มผช.๒/๒๕๔๖

ภาคผนวก ข.

คุณสมบัติของคณะผู้ตรวจสอบ

(ข้อ ๘.๒.๒)

ข.๑. คุณสมบัติของคณะผู้ตรวจสอบ

ข.๑.๑ มีความชำนาญในการตรวจสอบไวน์ผลไม้

ข.๑.๒ ประกอบด้วยผู้แทนจากกลุ่มบุคคลต่าง ๆ จำนวน ๑๐ คน ดังนี้

ข.๑.๒.๑ ผู้ผลิต ๒ คน

ข.๑.๒.๒ นักวิชาการ/ผู้ทรงคุณวุฒิ ๓ คน

ข.๑.๒.๓ ผู้บริโภค ๔ คน

ข.๑.๒.๔ ภาครัฐที่เกี่ยวข้อง ๑ คน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มผช.๒/๒๕๔๖

ภาคผนวก ค.

หลักเกณฑ์การให้คะแนนในการทดสอบ ความใส สี กลิ่น รสชาติ และคุณภาพโดยรวมของไวน์ผลไม้

(ข้อ ๘.๒.๓)

ลักษณะที่ตรวจสอบ	เกณฑ์ที่กำหนด	คะแนนเต็ม
ความใส	ใสตามลักษณะของไวน์ผลไม้	๑๐
สี	สีเป็นไปตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ และเป็นไปตามที่ระบุไว้ที่ฉลาก	๑๐
กลิ่น	มีกลิ่นหอมของผลไม้หรือน้ำผลไม้ที่นำมาผลิตไวน์ผลไม้ตามที่ระบุไว้ที่ฉลาก และไม่มีกลิ่นน้ำส้มสายชูหรือกลิ่นอื่น ๆที่ไม่พึงประสงค์ปรากฏเด่นชัด	๓๐
รสชาติ	มีความเป็นกรด หวาน ฝาด เปรี้ยน และกลมกล่อมตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ	๓๐
คุณภาพโดยรวมของไวน์ผลไม้	มีความใส สี กลิ่น และรสชาติ เป็นที่ยอมรับ	๒๐

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฌ

แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

แบบประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์: ไวน์สับปะรดผสมน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทอง

คำแนะนำ : กรุณาทดสอบตัวอย่างตามหมายเลขที่กำหนด แล้วให้คะแนนความชอบของสี ความใส กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม ที่มีต่อตัวอย่างด้วย 5 Point Hedonic Scales ได้แก่

คะแนนระดับ 1 คือไม่ชอบมากที่สุด คะแนนระดับ 2 คือไม่ชอบ

คะแนนระดับ 3 คือเฉยๆ คะแนนระดับ 4 คือชอบมาก

คะแนนระดับ 5 คือชอบมากที่สุด

รหัสตัวอย่าง	**คุณลักษณะที่ใช้ประเมิน**				
	สี	ความใส	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
246					
153					
345					
678					
130					
290					
178					
321					
654					
439					

ข้อเสนอแนะ.....

.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ญ
ผลการวิเคราะห์ค่าสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ ญ1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการศึกษาโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ที่เหมาะสมในน้ำสับปะรดที่เสริมด้วยน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองจากการ pour plate

SORCE	DF	Adj. SS	Adj. MS	F-Value	P-value
KMS(ppm)	4	1274	318.6	143.3	0
Error	10	22.24	2.224		
Total	14	1297			

ตารางภาคผนวกที่ ญ2 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของผลการศึกษาโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ที่เหมาะสมในน้ำสับปะรดที่เสริมด้วยน้ำสกัดเห็ดถั่งเช่าสีทองจากการ pour plate

KMS(ppm)	N	Mean	Grouping
50	3	25.00	A
100	3	20.22	B
150	3	5.56	C
200	3	3.89	C
250	3	2.94	C

ตารางภาคผนวกที่ ญ3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเปลี่ยนแปลงปริมาณร้อยละกรดทั้งหมด (ในรูปซิตริก) ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 3, 6, 9, 12 และ 15

SORCE	DF	Adj. SS	Adj. MS	F-Value	P-value
Time(Day)	5	16.531	3.30622	143.94	0.000
Sample	4	17.117	4.27919	186.30	0.000
Time(Day)* Sample	20	1.175	0.05877	2.56	0.003
Error	60	1.378	0.02297		
Total	89	36.201			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ญ4 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงปริมาณร้อยละกรดทั้งหมด (ในรูปซิตริก) ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15

Time(Day)* Sample	N	Mean	Grouping
15*PA+C.militaris[80g/L]	3	3.09	A
15*PA+C.militaris[100g/L]	3	2.89	A B
6*PA+C.militaris[80g/L]	3	2.84	A B
6*PA+C.militaris[100g/L]	3	2.72	A BC
12*PA+C.militaris[100g/L]	3	2.68	A BCD
3*PA+C.militaris[80g/L]	3	2.66	A BCD
12*PA+C.militaris[80g/L]	3	2.64	A BCD
9*PA+C.militaris[80g/L]	3	2.61	A BCDE
3*PA+C.militaris[100g/L]	3	2.60	A BCDE
9*PA+C.militaris[100g/L]	3	2.58	BCDE
15*PA+C.militaris[60g/L]	3	2.55	BCDE
6*PA+C.militaris[60g/L]	3	2.41	BCDEF
12*PA+C.militaris[60g/L]	3	2.35	CDEF
3*PA+C.militaris[60g/L]	3	2.20	DEFG
9*PA+C.militaris[60g/L]	3	2.14	FGHI
6*]C.militaris[60g/L]	3	1.98	GHIJ
15* C.militaris[60g/L]	3	1.80	GHIJK
12* C.militaris[60g/L]	3	1.72	GHIJK
15*PA	3	1.71	HIJK
9*C.militaris[60g/L]	3	1.70	HIJK
3*PA	3	1.69	IJK
3* C.militaris[60g/L]	3	1.61	IJK
12*PA	3	1.61	IJK
6*PA	3	1.51	JK
9*PA	3	1.48	JK
0*PA+C.militaris[80g/L]	3	1.41	KL
0*PA+C.militaris[100g/L]	3	1.29	KL
0*PA+C.militaris[60g/L]	3	1.24	L
0*PA	3	0.82	L

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Time(Day)* Sample	N	Mean	Grouping
0* C.militaris[60g/L]	3	0.80	L

ตารางภาคผนวกที่ ญ5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช(pH) ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15

SORCE	DF	Adj. SS	Adj. MS	F-Value	P-value
Time(Day)	5	0.41140	0.082279	398.12	0.000
Sample	4	1.39679	0.349197	1689.66	0.000
Time(Day)* Sample	20	0.34290	0.017145	82.96	0.000
Error	60	0.01240	0.000207		
Total	89	2.16349			

ตารางภาคผนวกที่ ญ6 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (pH) ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15

Time(Day)* Sample	N	Mean	Grouping
15*PA+C.militaris[80g/L]	3	4.02	A
12*PA+C.militaris[100g/L]	3	4.01	A
15*PA+C.militaris[100g/L]	3	4.00	AB
0*PA+C.militaris[60g/L]	3	4.00	AB
0*PA+C.militaris[100g/L]	3	4.00	AB
0*PA	3	4.00	AB
0*PA+C.militaris[60g/L]	3	4.00	AB
0*PA+C.militaris[80g/L]	3	4.00	AB
12*PA+C.militaris[80g/L]	3	3.99	AB
15*PA+C.militaris[60g/L]	3	3.98	AB
12*PA+C.militaris[60g/L]	3	3.96	BC
3*PA+C.militaris[80g/L]	3	3.94	CD
3*PA+C.militaris[100g/L]	3	3.93	CD
6*PA+C.militaris[100g/L]	3	3.92	CDE
9*PA+C.militaris[100g/L]	3	3.92	CDEF
9*PA+C.militaris[80g/L]	3	3.91	DEF

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Time(Day)* Sample	N	Mean	Grouping
6*PA+C.militaris[80g/L]	3	3.91	DEF
15* C.militaris[60g/L]	3	3.89	DEF
3* C.militaris[60g/L]	3	3.89	DEF
12* C.militaris[60g/L]	3	3.89	DEF
6*]C.militaris[60g/L]	3	3.88	EF
9*C.militaris[60g/L]	3	3.88	EF
3* C.militaris[60g/L]	3	3.88	EF
6*PA+C.militaris[60g/L]	3	3.87	F
9*PA+C.militaris[60g/L]	3	3.87	F
15*PA	3	3.67	G
12*PA	3	3.66	G
9*PA	3	3.54	H
3*PA	3	3.47	I
6*PA	3	3.46	I

ตารางภาคผนวกที่ ญ7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเปลี่ยนแปลงปริมาณร้อยละของแข็งที่ละลายน้ำได้ (องศาบริกซ์) ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15

SORCE	DF	Adj. SS	Adj. MS	F-Value	P-value
Time(Day)	5	2182.76	436.553	2929.89	0.000
Sample	4	942.91	235.726	1582.06	0.000
Time(Day)* Sample	20	198.98	9.949	66.77	0.000
Error	60	8.94	0.149		
Total	89	3333.59			

ตารางภาคผนวกที่ ญ8 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงปริมาณร้อยละของแข็งที่ละลายน้ำได้ (องศาบริกซ์) ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15

Time(Day)* Sample	N	Mean	Grouping
0*PA	3	22.00	A
0*PA+C.militaris[60g/L]	3	22.00	A
0*PA+C.militaris[100g/L]	3	22.00	A
0*PA+C.militaris[80g/L]	3	22.00	A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Time(Day)* Sample	N	Mean	Grouping
0*C.militaris[60g/L]	3	18.40	A
3*C.militaris[60g/L]	3	17.00	B
6* C.militaris[60g/L]	3	16.30	C
9*C.militaris[60g/L]	3	16.00	C
12*C.militaris[60g/L]	3	15.90	C
15*C.militaris[60g/L]	3	10.90	C
3*PA+C.militaris[100g/L]	3	10.50	D
3*PA+C.militaris[60g/L]	3	9.50	DE
3*PA+C.militaris[80g/L]	3	9.17	E
6*PA+C.militaris[60g/L]	3	7.83	F
6*PA+C.militaris[100g/L]	3	7.83	F
6*PA+C.militaris[80g/L]	3	7.67	FG
9*PA+C.militaris[80g/L]	3	7.67	FG
9*PA+C.militaris[100g/L]	3	7.67	FG
9*PA+C.militaris[60g/L]	3	7.50	FGH
3*PA	3	6.67	FGHI
6*PA	3	6.50	GHI
12*PA+C.militaris[100g/L]	3	6.33	HIJ
9*PA	3	6.33	HIJ
12*PA+C.militaris[80g/L]	3	6.33	HIJ
15*PA+C.militaris[80g/L]	3	6.33	HIJ
15*PA+C.militaris[80g/L]	3	6.13	IJ
12*PA+C.militaris[80g/L]	3	6.10	IJ
15*PA+C.militaris[80g/L]	3	6.10	IJ
12*PA+C.militaris[80g/L]	3	5.20	J
15*PA+C.militaris[80g/L]	3	5.20	J

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ญ9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเปลี่ยนแปลงปริมาณร้อยละแอลกอฮอล์ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15

SORCE	DF	Adj. SS	Adj. MS	F-Value	P-value
Time(Day)	5	1369.22	273.845	2019.34	0.000
Sample	4	417.99	104.497	770.56	0.000
Time(Day)* Sample	20	87.43	4.372	32.24	0.000
Error	60	8.14	0.136		
Total	89	1882.78			

ตารางภาคผนวกที่ ญ10 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการเปลี่ยนแปลงปริมาณร้อยละแอลกอฮอล์ในน้ำหมักไวน์ทั้ง 5 สูตร ในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15

Time(Day)* Sample	N	Mean	Grouping
15*PA+C.militaris[60g/L]	3	12.23	A
12*PA+C.militaris[60g/L]	3	12.23	A
15*PA+C.militaris[100g/L]	3	12.03	AB
15*PA	3	12.03	AB
15*PA+C.militaris[80g/L]	3	12.03	AB
9*PA+C.militaris[60g/L]	3	12.03	AB
12*PA+C.militaris[100g/L]	3	11.97	AB
6*PA+C.militaris[60g/L]	3	11.90	AB
12*PA	3	11.90	AB
6*PA+C.militaris[80g/L]	3	11.88	AB
9*PA+C.militaris[100g/L]	3	11.85	AB
12*PA+C.militaris[80g/L]	3	11.83	AB
9*PA+C.militaris[80g/L]	3	11.77	AB
9*PA	3	11.72	ABC
6*PA	3	11.70	ABC
6*PA+C.militaris[100g/L]	3	11.45	ABC
3*PA	3	11.38	ABC
3*PA+C.militaris[80g/L]	3	10.98	BCD
3*PA+C.militaris[60g/L]	3	10.55	CD

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Time(Day)* Sample	N	Mean	Grouping
3*PA+C.militaris[100g/L]	3	10.03	D
15* C.militaris[60g/L]	3	5.7	E
12* C.militaris[60g/L]	3	5.7	E
9* C.militaris[60g/L]	3	5.7	E
6* C.militaris[60g/L]	3	5.35	E
3* C.militaris[60g/L]	3	3.77	F
0*PA	3	0.00	G
0* C.militaris[60g/L]	3	0.00	G
0*PA+C.militaris[100g/L]	3	0.00	G
0*PA+C.militaris[60g/L]	3	0.00	G
0*PA+C.militaris[80g/L]	3	0.00	G

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฎ
การตรวจอักขราวิสุทธิ์

Plagiarism Checking Report

View Full Document

Print Report

Created on Jul 3, 2023 at 17:33 PM

Submission Information

ID	SUBMISSION DATE	SUBMITTED BY	ORGANIZATION	FILENAME	STATUS	SIMILARITY INDEX
3250861	Jul 3, 2023 at 17:33 PM	62050550@kmitl.ac.th	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	เล่มวิจัยไวน์พิเศษ007.pdf	Completed	2.04 %

Match Overview

Show 10 entries Search:

NO.	TITLE	AUTHOR(S)	SOURCE
1	THE STUDY OF CONSERVATION METHODS FOR NATIVE SWEETS TO BE A LEARNING SOURCE AND PROMOTING TOURISM ROUTES IN PHETCHABURI PROVINCE	หอมหวล, ณปภา	วารสารวิจัยและพัฒไลยอลงกรณ์ ในพระราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
2	ปัจจัยที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อไวน์ไทยในกรุงเทพมหานคร	ประภาพร ตันวิเศษ	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
3	https://agkb.lib.ku.ac.th/sugardb/search_detail/dowload_digital_file/157787/46383	agkb.lib.ku.ac.th	agkb.lib.ku.ac.th_
4	การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอินทรีย์และน้ำตาลในน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย (Ananas comosus cv. Smooth Cayenne) ที่ต่างพื้นที่ปลูกและระดับความสุกOrganic acids and sugar changes in pineapple juice (Ananas comosus cv. Smooth Cayenne) from different location planted	จิรภา พงษ์จันตา,อัณณ์กาญจน์ นวลบุญเรือง,ลชินี ปานใจ,ธัญลักษณ์ บัวผัน	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
5	The optimum conditions for fermentation of Lamduan wine using immobilized	สอนสะอาด, นจรี	วารสารเกษตรศาสต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ

วันที่ 3 เดือน กรกฎาคม พ.ศ 2562

ข้าพเจ้า นางสาว สาลิดา ศิริวาลย์ รหัสประจำตัว 62050546
นางสาว สุมิตตา บุญแก้ว รหัสประจำตัว 62050550
นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษเรื่อง

ชื่อภาษาไทย การผลิตไวน์สับปะรดผ่านการหมักด้วย *Saccharomyces cerevisiae* ที่เสริมด้วย *Cordyceps militaris*

ชื่อภาษาอังกฤษ Pineapple wine production through fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* supplemented with *Cordyceps militaris*

ปีการศึกษา 2565

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 2.04 %

ลงชื่อ.....สาลิดา ศิริวาลย์..... ลงชื่อ.....สุมิตตา บุญแก้ว.....
(สาลิดา ศิริวาลย์) (สุมิตตา บุญแก้ว)
นักศึกษา นักศึกษา

ข้าพเจ้า รศ. อารี ฤทธิบูรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....
(รศ.อารี ฤทธิบูรณ์)
อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวสาลิดา ศิริวาลย์

วัน เดือน ปีเกิด 29 พฤศจิกายน พ.ศ. 2543

ที่อยู่ปัจจุบัน 9/3 ซอยร่มเกล้า19 แขวงคลองสามประเวศ เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

E-mail 62050546@kmitl.ac.th

เบอร์โทรศัพท์ 0933589821

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2556 – 2558 มัธยมต้น โรงเรียนมาเรียลัย กรุงเทพมหานคร

พ.ศ. 2559 – 2561 มัธยมปลาย โรงเรียนมาเรียลัย กรุงเทพมหานคร

พ.ศ. 2562 – ปัจจุบัน วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประสบการณ์

พ.ศ. 2565 ฝึกงานที่บริษัทการบินไทยจำกัดมหาชน (ฝ่ายครัวการบินไทย) สมุทรปราการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวสุมิตตา บุญแก้ว

วัน เดือน ปีเกิด 1 มิถุนายน พ.ศ.2544

ที่อยู่ปัจจุบัน 77 หมู่ 5 หมู่บ้านอยู่สบาย ตำบลหนองกะขะ อำเภอพานทอง จังหวัดชลบุรี 20160

E-mail 62050550@kmitl.ac.th

เบอร์โทรศัพท์ 0656974771

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2556 – 2558 มัธยมต้น โรงเรียนวัฒนานุศาสน์

พ.ศ. 2559 – 2561 มัธยมปลาย โรงเรียนชลบุรี ‘สุขบท’

พ.ศ. 2562 – ปัจจุบัน วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประสบการณ์

พ.ศ. 2565 ฝึกงานที่บริษัทการบินไทยจำกัดมหาชน (ฝ่ายครัวการบินไทย) สมุทรปราการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้