



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง **ไวน์ลิชี่**
(Lichee wine)

โดย **นายสาโรจน์ ใต้ชามงคล**

ได้รับพิจารณาเห็นชอบจาก...

- 25/12/31 **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**
(**นายวราวุฒิ กฤษสง**)
- 15/11/31 **กรรมการของภาควิชา**
(**นางอนงค์ วรอุไร**)
- 25/11/31 **กรรมการของภาควิชา**
(**นายมนตรี พจนารถดาวังเย**)

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....
(**นายวราวุฒิ กฤษสง**)

รักษาการหัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 28 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2531

ป.พ.
๖๘๓๐
๒๕๓๐

ปัญหาพิเศษ (45497)

เรื่อง

ไวน์ลันจี

(Lichee wine)



T096726



โดย

นาย สโรจน์ ปัญญามงคล

เสนอ

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

พ.พ.

พ.ศ. 2530

๙๖๗๒๖
๒๕ 3๐

เลขทนาย.....

เลขทะเบียน..... 96726

วันเดือนปี..... 4 11 2530

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

เรื่อง

ไวน์ลิ้นจี่

(Lichee wine)

เมื่อใช้ยีสต์ชนิดไวน์คยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*, AG1 พบว่าสภาพที่เหมาะสมในการหมักประกอบด้วยอัตราส่วนน้ำลิ้นจี่ต่อน้ำเท่ากับอัตราส่วน 50 : 50 โดยปริมาตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เริ่มต้น 15 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นสภาวะการหมักที่มีจำนวนเซลล์ยีสต์เพิ่มขึ้นมากที่สุด และให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด 6.5 เปอร์เซ็นต์

ในการหมักแบบ fed-batch fermentation สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการหมักให้สูงขึ้น โดยเชื้อยีสต์สามารถใช้สารอาหารได้อย่างเต็มที่ และเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์สูงขึ้น คือที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์รวม 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับ 7.2, 8.4 และ 9.7 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	1
สารบัญภาพ	2
คำนำ	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการทดลอง	12
สรุปแล้วิจารณ์ผลการทดลอง	24
เอกสารอ้างอิง	26
ภาคผนวก	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้拿去ใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ปริมาณของยีสต์ในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนน้ำลินจ์ต่อน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ	14
2. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนน้ำลินจ์ต่อน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ	15
3. ปริมาณอัลกอฮอล์ในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนน้ำลินจ์ต่อน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ	15
4. เปรียบเทียบผลของเชื้อยีสต์เริ่มต้นต่อประสิทธิภาพการหมักไวน์ลินจ์ในชั่วโมงที่ 120	16
5. ปริมาณเซลล์ยีสต์ในน้ำหมักที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในระดัต่าง ๆ	18
6. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือในน้ำหมักระหว่างการหมักที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในระดับต่าง ๆ	18
7. ปริมาณกรดในน้ำหมักที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในระดับต่าง ๆ	19
8. ผลของการหมักไวน์ลินจ์ในสภาพที่เหมาะสม	19

สารบัญ

ภาพ	หน้า
1. แสดงขั้นตอนการหมักไวน์	7
2. ผลของปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่อจำนวนเซลล์ในน้ำหมักในช่วง เวลาต่าง ๆ	17
3. ผลของปริมาณน้ำตาลที่ใส่ เริ่มต้นต่อปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นในน้ำหมักในชั่วโมงที่ 120	20
4. ผลของการหมักแบบ fed-batch fermentation ต่อจำนวนเซลล์ เมื่อมีการ เติมน้ำตาลที่ใส่รวมในระดั้มต่าง ๆ	21
5. ปริมาณน้ำตาลที่ใส่ในน้ำหมักที่มีการหมักแบบ fed-batch fermentation เมื่อมีการ เติมน้ำตาลที่ใส่รวมในระดั้มต่าง ๆ	22
6. ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักแบบ fed-batch fermentation เมื่อมีการ เติมน้ำตาลที่ใส่รวมในระดั้มต่าง ๆ	23

คำนำ

ลินจี้ เป็นผลไม้ที่มีรสชาด เบี้ยวอมหวาน มีค่าพีเอชประมาณ 3.5 - 4.5 มีความหวานประมาณ 16 - 22 องศาบริกซ์ ซึ่งถือว่าเป็นผลไม้ที่เหมาะจะนำมาทำไวน์โคญักชนิดหนึ่ง เมื่อสุกจัดแล้วจะมีกลิ่นหอมมากเป็นกลิ่นเฉพาะของลินจี้ ผลไม้ที่จะนำมาทำไวน์นั้น ปกติจะใช้อองุ่น ซึ่งเป็นผลไม้ที่นำมาหมักไวน์ได้ง่ายที่สุด ในสมัยก่อนนั้นจะนำองุ่นมาหมักโดยไม่เติมเชื้อยีสต์เลย อาศัยเชื้อยีสต์ที่ติดอยู่กับองุ่นช่วยให้เกิดการหมักและองุ่นก็เป็นผลไม้ของประเทศไทยที่เชื้อยีสต์จะเจริญโตที่คุ้นแล้ว เพราะมีพีเอช ความหวาน สารอาหาร ที่เหมาะสมอยู่แล้ว เมื่อเรานำลินจี้มาหมักไวน์ ซึ่งเป็นผลไม้ที่ยังไม่ค่อยมีการนำมาทำไวน์เป็นอุตสาหกรรม ดังนั้นจึงได้นำลินจี้มาทำการทดลองหมักไวน์ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการหมักไวน์ลินจี้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสภาพที่เหมาะสมในการหมักไวน์ลินจี้
2. ศึกษาการหมักไวน์ลินจี้ ให้มีปริมาณเอทานอลสูงโดยอาศัย fed-batch fermentation process

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

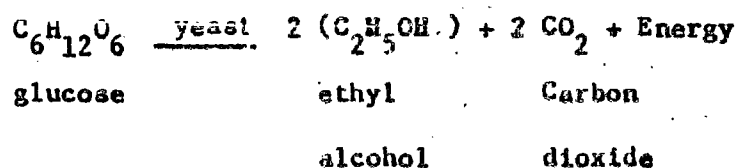
ตรวจเอกสาร

ไวน์คือเครื่องดื่มประเภทอัลกอฮอล์ซึ่งเกิดจากการหมักน้ำตาลในคืนด้วยเชื้อยีสต์ โดยมีขบวนการควบคุมอย่างเหมาะสม ส่วนไวน์ที่เกิดจากการหมักผลไม้อื่นเรียกว่า ไวน์ผลไม้ น้ำผลไม้ที่เหมาะสมควรมีความหวานประมาณ 20-25 เปอร์เซ็นต์ พีเอช หรือความเป็นกรดค้างอยู่ระหว่าง 3.2-4.0 ส่วนการทำลายจุลินทรีย์ในน้ำผลไม้ขบวนการเติมสารเคมีเช่น โซลิตเซียมเมตาไบซัลไฟต์ ขนาด 200 พีพีเอ็มจะให้ไวน์ที่มีคุณภาพดีกว่าการใช้ความร้อนมาก ในการทำไวน์องุ่นควรจะใช้เชื้อสา (starter) ประมาณ 1-5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการทำไวน์แดงจะใช้เชื้อสา 3-5 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณไวน์ทั้งหมดที่จะทำ (ประคิษฐ์, 2520)

ลูจันทร(2522) กล่าวว่าในไวน์ประกอบด้วยเอทิลอัลกอฮอล์ น้ำตาล คาร์โบไฮเดรท โพลีฟีนอล(polyphenol) อัลดีไฮด์ (aldehyde) คีโตน (ketone) เอนไซม์ (enzymes) สารให้สี (pigments) วิตามินและแร่ธาตุต่าง ๆ 15-20 ชนิด นอกจากนี้ยังมีชนิดอื่นมากกว่า 22 ชนิด รวมทั้งสารอื่น ๆ ที่ยังไม่ได้จำแนกอีก ในไวน์ผลไม้มีความเป็นกรดประมาณ 0.60 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรดของไวน์ผลไม้ค่อนข้างต่ำเพราะ เวลามันไม่นานเหมือนไวน์องุ่น

Alfred (1906) กล่าวว่าเชื้อที่เหมาะสมจะใช้ในการหมักคือเชื้อสาที่ใหม่ ๆ โดยการใส่เชื้อสาที่แข็งขึ้น (active) ที่ 1 เปอร์เซ็นต์ จะได้ผลเป็นที่น่าพอใจ ทั้งนี้ในการหมักน้ำผลไม้ที่ใสสะอาดปราศจากเชื้อยีสต์ป่า และแบคทีเรีย ที่ไม่พึงประสงค์อยู่ การหมักจะให้ผลดีควรที่จะเติมเชื้อสา 3 เปอร์เซ็นต์ การเติมเชื้อสามากเกินไป ไม่ควรจะทำเพราะจะทำให้เกิดการหมักอย่างรวดเร็ว จนเกิดความร้อนมากขึ้นอย่างรวดเร็วเกินกว่าจะควบคุมได้ด้วยการหล่อเย็น ทำให้เชื้อที่เติมลงไปเป็นอันตราย

Amerine and Ough (1974) ได้กล่าวว่าขบวนการหมักไวน์นั้นยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลในกลาย เป็นเอทิลอัลกอฮอล์ แกสคาร์บอนไดออกไซด์ และพลังงานภายใต้สภาพปลอดอากาศ ดังนั้นในสมการข้างล่างส่วนขั้นตอนในการหมักไวน์แสดงในภาพที่ 1



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Vine (1981) ได้กล่าวว่า เอทานอล (Ethanol) เป็นการนิตระหว่างการหมักโดยการกระทำของ เซลล์ยีสต์ที่น้ำตาล เอทานอลมีส่วนช่วยต้านรสชาติเล็กน้อย โดยเฉพาะในไวน์ที่มีความเข้มข้นแอลกอฮอล์ต่ำ เช่นไวน์ธรรมดา (table wine) ไวน์ที่อัดแก๊ส (Carbonated and Sparkling wine) ซึ่งจะมีแอลกอฮอล์ต่ำกว่า 14 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร นอกจากนี้เอทานอลยังเป็นตัวละลายที่ดีของสารให้กลิ่น (aromatic) สารให้รสชาติ (flavour) ที่พบในไวน์บางชนิด

แหล่งเอทานอลในไวน์ได้มาจากน้ำตาลของผลไม้เป็นแหล่งสำคัญที่สุด มีความสำคัญต่อรสชาติด้วย น้ำตาลเดกซ์โทรส (Dextrose) และเลวูโลส (Levulose) เป็นน้ำตาลเบื้องต้นที่ใช้โดยปกติสัดส่วนน้ำตาลทั้ง 2 ชนิด คือ 1 ต่อ 1 แต่อาจจะเพิ่มมันหรือลดลงขึ้นอยู่กับพันธุ์องุ่น การสุก และสัดส่วนของน้ำตาลที่มีความสำคัญต่อการทำไวน์ด้วย (Amerine, 1960)

ลูกจันทร์ (2522) ได้ศึกษาการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) เพื่อระงับการเจริญเติบโตของยีสต์ป่า (wild yeast) เรามักจะได้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ลงไปในน้ำองุ่น (must) โดยอาจจะใส่ในรูปของกำมะถันหรือในรูปของเกลือเช่น Sodium or Potassium metabisulfite ($Na_2S_2O_5$ or $K_2S_2O_5$) หรือ Sodium bisulfite ($NaHSO_3$) การใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 120 พีพีเอ็ม แต่ถาเป็น Potassium metabisulfite ต้องใช้ถึง 2 เท่า

สำหรับฤทธิ์ของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ที่มีต่อจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับ พีเอชของไวน์ก่อนหมักด้วย พีเอชควรอยู่ระหว่างพีเอช 3-4 ในช่วงพีเอชดังกล่าวจะแตกตัวให้ bisulfite ion (HSO_3^-) มากมี SO_3^{2-} และ SO_2 น้อย ทั้งรูป bisulfite ion (HSO_3^-), SO_3^{2-} และ SO_2 เรียกว่า Free SO_2 หรือซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระ ซึ่งเป็นพวกที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์สูง นอกจากนี้ในทางประเทศยังมีการใช้ diethyl pyrocarbonate (DEPC) ในการฆ่ายีสต์และป้องกันการหมักใหม่ และใช้ sorbic acid ในการฆ่าเชื้อรา ในการหมักไวน์ (ปทุมพร, 2526)

องค์ประกอบที่สำคัญของไวน์ ไวน์ที่ดีควรมีองค์ประกอบที่สำคัญดังนี้

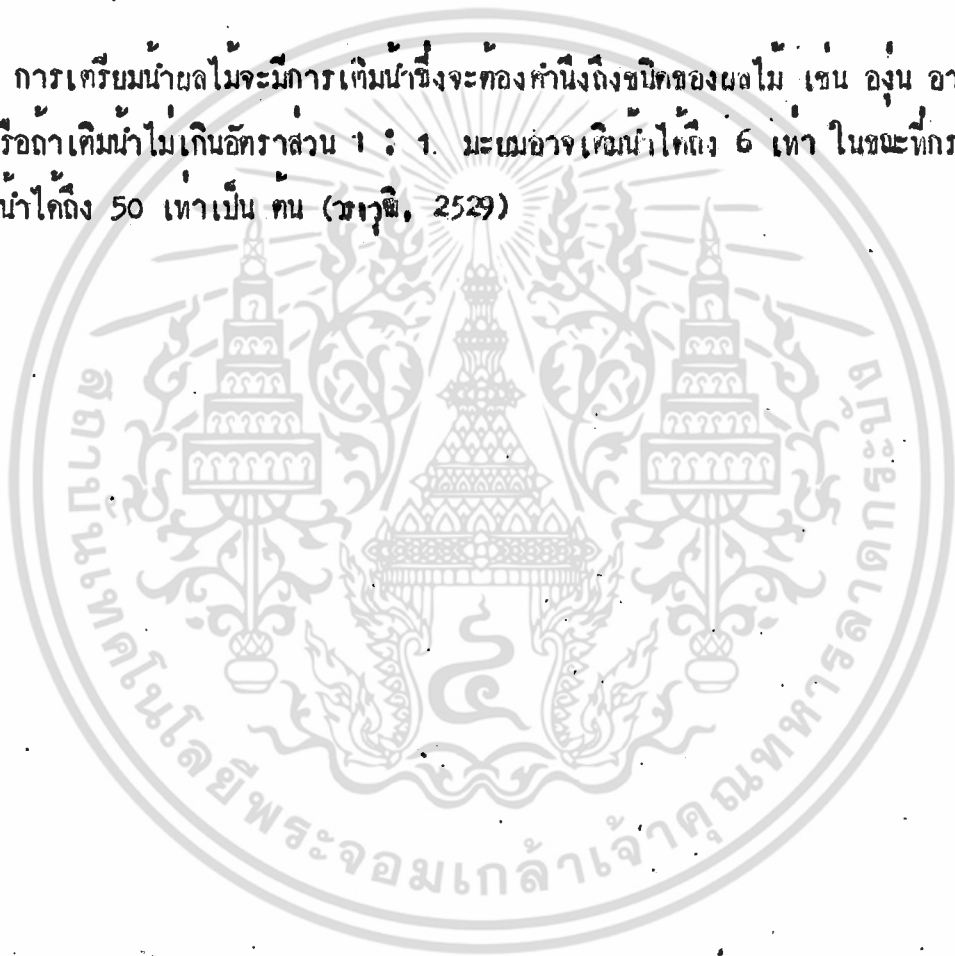
1. แอลกอฮอล์ประมาณ 10-14 เปอร์เซ็นต์
2. ปริมาณกรดทั้งหมด (total acidity) ประมาณ 0.6-0.9 เปอร์เซ็นต์ในรูปของ tartaric acid

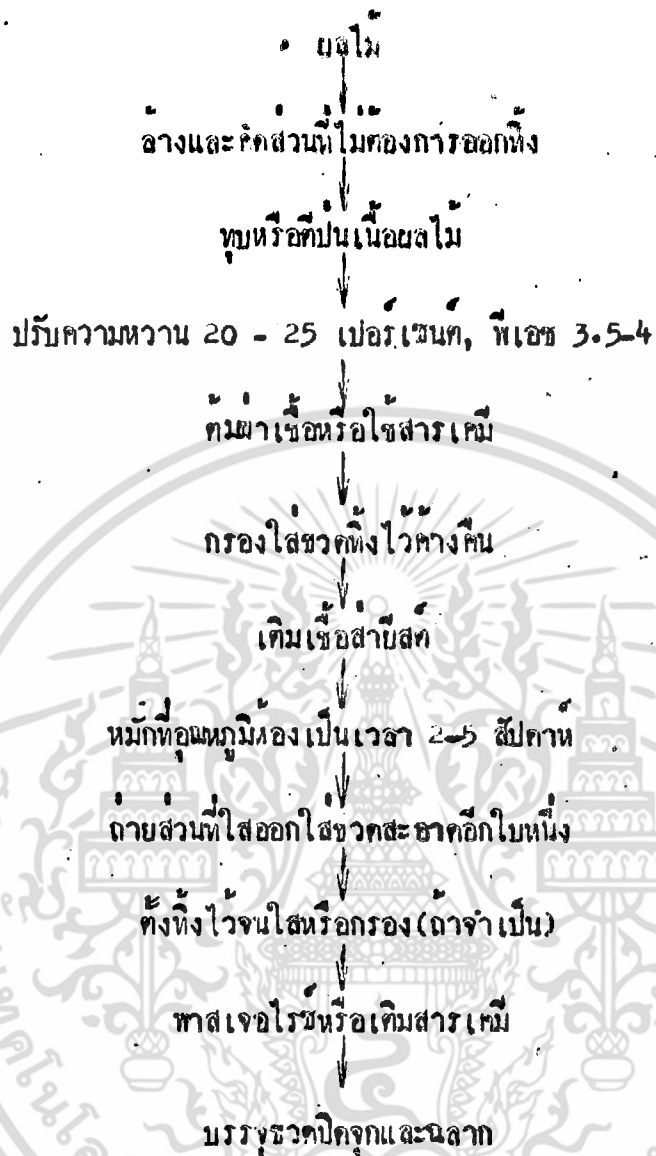
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. กรดระเหย (Volatile acid) ประมาณ 0.01-0.02 เปอร์เซ็นต์ในรูปของกรดอะซิติก
4. พีเอชประมาณ 3.2 - 3.8
5. อัลดีไฮด์มีเพียงเล็กน้อยถ้าในไวน์มีอัลดีไฮด์ปริมาณสูงแสดงว่าไวน์นั้นถูกออกซิไดส์
6. เอสเทอร์ (ester) มีปริมาณต่ำ ทั้งนี้เพราะเอสเทอร์เกิดจากขบวนการออกซิเคชั่น

$$\text{acetic acid} + \text{ethyl alcohol} \rightarrow \text{ethyl acetate}$$

การเติมน้ำตาลไม่จะมีการเติมน้ำซึ่งจะตกค้างถึงชนิดของผลไม้ เช่น องุ่น อาจไม่
 ต้องเติมน้ำหรือถ้าเติมน้ำไม่เกินอัตราส่วน 1 : 1. มะเขืออาจเติมน้ำได้ถึง 6 เท่า ในขณะที่กระเจี๊ยบ
 แดงอาจเติมน้ำได้ถึง 50 เท่าเป็น ต้น (วราวุฒิ, 2529)





ภาพที่ 1 แสดงขั้นตอนการหมักไวน์

ที่มา : Amerine(1960)

การคัดเลือกผลไม้โดยทั่วไปผลไม้ทุกชนิดสามารถที่จะเปลี่ยนนำมาทำไวน์ได้ ขึ้นอยู่กับคุณลักษณะผลไม้ชนิดใด แต่จากการทดลองนำผลไม้มาทำไวน์นั้น สามารถแบ่งผลไม้ได้เป็น 3 ประเภทคือ

1. ผลไม้ที่ใช้ทำไวน์ได้ผลดี และมีปริมาณของประชาชนทั่วไปเห็น ชงุ่น กระเจี๊ยบ ลูกหว้า มะกอก สับประรด เป็นต้น

2. ผลไม้ที่จะนำมาทำไวน์ได้ เช่น มะเฟือง มะขามเป็ก มะขามป้อม ลำไย ส่วนผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว ฝาดและส้ม เมื่อนำมาทำไวน์คนส่วนมากไม่นิยม

3. ผลไม้ที่นำมาทำไวน์ไม่ค่อยดีเท่าไร ผลไม้ที่มีแฉะมาก ๆ เช่น กว๊าน ทุเรียน ไวน์ที่ได้จะไม่หอม มีกลิ่นฉุน (ปัญญา, 2527)

นิรนาม (2512) ได้รายงานว่า ดินดีเป็นผลไม้ที่มีการปลูกกันมากในจังหวัดทางภาคเหนือของไทยเช่น จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ซึ่งจะให้ผลผลิตในช่วงเดือนพฤษภาคม - กรกฎาคม และมีปลูกในแถบภาคกลางบางส่วน เช่น จังหวัดสมุทรสงคราม ดินดีเป็นผลไม้ที่มีรสเปรี้ยวอมหวาน มีกลิ่นหอม จึงเหมาะที่จะนำมาทำไวน์ เพราะเมื่อทำการตรวจสอบด้วยการวัดพีเอชและเปอร์เซ็นต์ความหวานแล้วได้ค่าพีเอช 3.5-4.5 มีความหวาน 16-22 องศาบริกซ์ (Brix) จึงเหมาะที่จะนำมาทำไวน์เป็นอย่างมาก

วรารุณี (2529) กล่าวว่า การหมักในสภาพ fed-batch fermentation เป็นการหมักที่มีการเติมวัตถุดิบและสารอาหาร ลงไปมากกว่า 1 ครั้งขึ้นไป ทั้งนี้เพื่อให้ยีสต์สามารถใช้วัตถุดิบและสารอาหารได้อย่างเต็มที่และใช้ได้ไ้ปริมาณสูง ทำให้ผลิตกันที่สูงขึ้น นิยมใช้ในการปรับปรุงกระบวนการผลิต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 น้ำล้นจี่

1.2 เชื้อยีสต์คือ Saccharomyces cerevisiae AG1

1.3 ขวดหมัก

1.4 เครื่องแกว่งที่ใช้ในการวิเคราะห์

1.5 สารเคมี potassium metabisulfite, Citric acid, ammonium sulphate

2. วิธีการทดลอง

2.1 การหาอัตราส่วนน้ำล้นจี่ต่อน้ำที่เหมาะสมในการหมักไวน์ล้นจี่

2.1.1 การเตรียมน้ำล้นจี่สำหรับหมักไวน์ โดยใช้อัตราส่วนน้ำล้นจี่ต่อน้ำเท่ากับ 75 : 25, 50 : 50 และ 25 : 75 โดยปริมาตร ปรับพีเอชเท่ากับ 3.5 ด้วยกรดซิตริกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และเติมน้ำตาลจนมีปริมาณน้ำตาลที่รสเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ เติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ และโปตัสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 200 พีพีเอ็ม แล้วเทใส่ขวดแกว่งที่หมักขวดละ 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 6 ชั่วโมงจึงเติมกล้าเชื้อ

2.1.2 การเตรียมน้ำเชื้อ (starter) โดยใช้น้ำล้นจี่ที่มีความหวาน 15 องศาบริกซ์ และปรับพีเอช 3.5 ใส่ลงในพลาสติก ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปมาเช็ดด้วยหมอนึ่งความดัน ที่ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที ปล่อยให้เย็นแล้วทำการถ่ายเชื้อยีสต์อายุ 18 - 24 ชั่วโมง จาก PDA slant เขย่าให้เชื้อกระจายจากหม้อมันที่อุณหภูมิห้อง 18-24 ชั่วโมง

2.1.3 การหมักน้ำกล้าเชื้ออายุ 18-24 ชั่วโมง ถ่ายลงในขวดหมักปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน ทำการทดลอง 3 ข้าง

2.1.4 การตรวจผลการหมัก

ก. สังเกตผลการหมักในช่วงระยะเวลา 5 วันและลักษณะการเจริญของเชื้อยีสต์

ข. เก็บตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ทุก ๆ 24 ชั่วโมงตลอดการหมักแล้วนำไปวิเคราะห์

- จำนวนเซลล์สตกวววี Haemocytometer
- หาเปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Lane and Eynon (AOAC, 1975)
- หาเปอร์เซ็นต์เอธิลแอลกอฮอล์ควววีของ American and Ough (1974)
- หาเปอร์เซ็นต์กรดตาม AOAC (1975)
- วัตถุประสงค์

2.2 การหาปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่เหมาะสมในการหมักไวน์ลินจ์

- 2.2.1 เตรียมน้ำลินจ์โดยใช้อัตราส่วนน้ำลินจ์ต่อน้ำที่เหมาะสมที่ได้รับจากข้อ 2.1
- 2.2.2 เตรียมกลาเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 2.1.2
- 2.2.3 การหมัก น้ำกลาเชื้ออายุ 18-24 ชั่วโมงถ่ายลงในขวดหมัก ในปริมาณ 1, 2, 5, 7, และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ทำการทดลอง 3 ข้ำ หมักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน
- 2.2.4 การตรวจผลของการหมัก หลังจากหมักทุก 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างไปหาจำนวนเซลล์ยีสต์เปลี่ยนแปลงไป และเมื่อหมักครบ 5 วันแล้ว นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์ เปอร์เซ็นต์กรด ตามวิธีการในข้อ 2.1.4 (ก)

2.3 การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นที่เหมาะสม

- 2.3.1 เตรียมน้ำลินจ์โดยใช้อัตราส่วนน้ำลินจ์ต่อน้ำที่เหมาะสมที่ได้รับจากข้อ 2.1 ทั้งนี้โดยปรับ เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 15, 20, 22, 25 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลอง 3 ข้ำ
- 2.3.2 เตรียมกลาเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 2.1.2
- 2.3.3 การหมัก น้ำกลาเชื้ออายุ 18-24 ชั่วโมง ถ่ายลงในขวดหมักโดยใช้ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่เหมาะสมที่ได้รับจากข้อ 2.2 ทำการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน
- 2.3.4 การตรวจผล หลังจากการหมักทุก 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ตามวิธีการในข้อ 2.1.4 (ข)

2.4 การหมักไวน์ลินจี่ในสภาพที่เหมาะสม

2.4.1 เตรียมน้ำลินจี่ ใช้อัตราส่วนน้ำลินจี่ที่เหมาะสมที่ได้รับจากข้อ 2.1

ปรับเปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวส์เริ่มต้นที่เหมาะสมจากข้อ 2.3

2.4.2 เตรียมกล้าเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 2.1.2

2.4.3 การหมัก น้ำกล้าเชื้ออายุ 18-24 ชั่วโมง ถ่ายลงในขวดหมักโดยใช้ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่เหมาะสม จากข้อ 2.2 หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

2.4.4 การตรวจผล หลังจากหมักทุก 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์ตามวิธีการในข้อ 2.1.4 (ข)

2.5 การหมัก เพื่อเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ลินจี่โดยอาศัย Fed batch fermentation

2.5.1 เตรียมน้ำลินจี่โดยใช้อัตราส่วนน้ำลินจี่ต่อน้ำที่เหมาะสมจากข้อ 2.1

ปรับปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เริ่มต้นประมาณ 5, 7 และ 8 เปอร์เซ็นต์ใส่ลงในขวดหมัก 3 ใบตามลำดับ ทำการทดลอง 3 ข้ำ

2.5.2 เตรียมกล้าเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 2.1.2

2.5.3 การหมัก แบ่งการหมักเป็น 3 ช่วง โดยช่วงแรกหมักโดยใช้ปริมาตร 1/3 ของปริมาตรรวม หลังจากนั้นอีก 24 ชั่วโมง เติมน้ำลินจี่ลงไปเป็น 2/3 ของปริมาตรรวม และเมื่อหมักได้ 48 ชั่วโมง เติมน้ำลินจี่ลงไปอีกจนเต็มปริมาตรรวม โดยในการเติมแต่ละครั้ง จะเติมน้ำลินจี่ที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ 5, 7 และ 8 เปอร์เซ็นต์เสมอ เพราะฉะนั้นการหมักครั้งนี้ จะใช้ ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์รวมทั้งสิ้น 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การถ่ายเชื้อจะนำกล้าเชื้อที่อายุ 18-24 ชั่วโมง ถ่ายลงในขวดหมัก โดยใช้ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่เหมาะสมจากข้อ 2.2 ลงในการหมักตั้งแต่เริ่มต้น ทำการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน ทำการทดลอง 3 ข้ำ (ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 500 มิลลิลิตร)

2.5.4 การตรวจผล ตามวิธีการในข้อ 2.1.4 (ข)

ผลการทดลอง

1. ผลการหาอัตราส่วนน้ำล้นจืดที่ที่เหมาะสมในการหมักไวน์ล้น

การหมักไวน์ล้น โดยใช้อัตราส่วนน้ำล้นจืดที่เท่ากับ 75 : 25, 50 : 50 และ 25 : 75 (โดยปริมาตร) มีปริมาณน้ำตาลที่วัดเริ่มต้น 15 เปอร์เซ็นต์ ค่าพีเอช 3.5 ทำการหมักด้วยเชื้อ Saccharomyces cerevisiae. AG1 เป็นเวลา 5 วัน ผลการหมักแสดงในตารางที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

การใช้อัตราส่วนน้ำล้นจืดที่ 50 : 50 โดยปริมาตร จะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วและมากกว่าอัตราส่วน 75 : 25 และ 25 : 75 โดยปริมาตรตามลำดับ ในขณะที่การใช้น้ำตาลที่วัดของ เชื้อยีสต์พบว่าที่อัตราส่วน 50 : 50 โดยปริมาตรจะมีค่าลดลงมากกว่าอัตราส่วน 75 : 25 และ 25 : 75 โดยปริมาตร ตามลำดับ และการหมักที่อัตราส่วน 50 : 50 โดยปริมาตร จะให้ผลอัลกอฮอล์สูงสุด รองลงมาคืออัตราส่วน 75 : 25 และ 25 : 75 โดยปริมาตรตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกใช้อัตราส่วนน้ำล้นจืดที่เท่ากับ 50 : 50 โดยปริมาตร ในการทดลองต่อไป

2. ผลการหาปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่เหมาะสมในการหมักไวน์ล้น

เมื่อทำการหมักไวน์ล้นจืดด้วยอัตราส่วนน้ำล้นจืดที่ 50 : 50 โดยปริมาตร โดยใส่ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นเท่ากับ 1, 2, 5, 7 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรเป็นเวลา 5 วันโดยผลการหมักแสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 2

จำนวนเซลล์ยีสต์สูงสุดเมื่อใช้ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือที่ 7, 10, 2 และ 1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 5 วันแล้วพบว่าปริมาณน้ำตาลที่ถูกลดหายไป น้ำหมักที่เติมเชื้อยีสต์เริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์มากที่สุด ขณะเดียวกันก็ให้ปริมาณอัลกอฮอล์สูงสุดด้วย รองลงมาคือน้ำหมักที่เติมเชื้อยีสต์เริ่มต้น 7, 10, 2 และ 1 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดเริ่มต้น ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ในการทดลองต่อไป

3. ผลการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เริ่มต้นที่เหมาะสม

การหมักไวน์ลินจิวด้วยอัตราส่วนน้ำลินจิวต่อน้ำ 50 : 50 โดยปริมาตร โดยใช้เชื้อยีสต์ เริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์แล้วปรับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 15, 20, 22, 25 และ 30 เปอร์เซ็นต์โดยผลการหมัก แสดงในตารางที่ 5, 6, 7 และภาพที่ 3

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 15 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นสูงสุด ขณะเดียวกันกับการใช้น้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด ทำให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดเท่ากับ 6.1 เปอร์เซ็นต์ ผลตรงลงมาคือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 20, 22 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 30 เปอร์เซ็นต์จะไม่พบจำนวนเซลล์เลยหลังจากการหมักผ่านไป 24 ชั่วโมง และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เปลี่ยนแปลงน้อยมาก จากการสังเกตลักษณะการหมักว่า ลักษณะการหมักเกิดขึ้นในน้ำหมักที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 15, 20, 22 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ 30 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบลักษณะการหมัก สภาพความเป็นกรดพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ระหว่างการหมักแต่เมื่อหมักถึง 5 วันแล้ว ความเป็นกรดจะเท่าเดิม นอกจากในน้ำหมักที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 30 เปอร์เซ็นต์ จะไม่พบการเปลี่ยนแปลงเลย ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 15 เปอร์เซ็นต์ในการทดลองต่อไป

4. ผลการหมักไวน์ลินจิวในสภาพที่เหมาะสม

การหมักไวน์ลินจิวด้วยอัตราส่วนน้ำลินจิวต่อน้ำ 50 : 50 โดยปริมาตร ปรับพีเอชเท่ากับ 3.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 15 เปอร์เซ็นต์ ใช้เชื้อยีสต์เริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์ ผลของการหมักแสดงในตารางที่ 8

จากผลการทดลองพบว่า การหมักในสภาพที่เหมาะสมที่ศึกษานี้ เซลล์สามารถเพิ่มจำนวนได้มาก เพราะน้ำตาลรีดิวซ์ถูกใช้ไปมากเช่นกัน ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักภายใน 5 วันเท่ากับ 6.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนความเป็นกรดจะมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยเท่านั้นระหว่างการหมัก

5. ผลการหมักเพื่อเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์โดยอาศัย fed batch fermentation

การหมักไวน์ลินจิวแบบ fed batch process โดยถาวรเตรียมน้ำลินจิวด้วยอัตราส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำล้นจืดท่อน้ำ 50 : 50 โดยปริมาตร ปริมาณพีเอชเท่ากับ 3.5 ปริมาณน้ำตาลรีทิวส์เริ่มต้น 5, 7 และ 8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับโดยการเติมน้ำล้นจืด 3 ครั้งจนมีปริมาณน้ำตาลรีทิวส์รวมเท่ากับ 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ทำการหมัก 5 วันโดยผลการหมักแสดงในภาพที่ 4, 5, 6

จากผลการหมักพบว่าในน้ำหมักที่มีปริมาณน้ำตาลรีทิวส์รวม 25 เปอร์เซ็นต์ มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ยีสต์สูงสุด รองลงมาคือ 20 และ 15 เปอร์เซ็นต์ การใช้ น้ำตาลรีทิวส์ของเชื้อยีสต์พบว่า ในน้ำหมักที่มีปริมาณน้ำตาลรีทิวส์รวม 25 เปอร์เซ็นต์ถูกใช้ไปมากที่สุด ทำให้ได้เปอร์เซ็นต์อัลกอฮอล์สูงสุดเท่ากับ 9.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่มีปริมาณอัลกอฮอล์รองลงมาคือ ในน้ำหมักที่มีปริมาณน้ำตาลรีทิวส์รวม 20 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเท่ากับ 8.4 และ 7.2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในน้ำหมักที่มีน้ำตาลรีทิวส์รวมทั้งสามระดับก็มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยออกจากการหมักคือประมาณ 0.6 - 0.7 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 1 ปริมาณเซลล์ยีสต์ในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนน้ำล้นจืดท่อน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ

เวลา (วัน)	อัตราส่วนน้ำล้นจืดท่อน้ำ (% โดยปริมาตร)		
	75 : 25	50 : 50	25 : 75
0	7.3×10^6	6.0×10^6	7.3×10^6
1	3.0×10^7	4.1×10^7	2.4×10^7
2	8.8×10^7	9.8×10^7	4.5×10^7
3	7.5×10^8	9.1×10^8	8.2×10^7
4	3.3×10^9	4.2×10^9	3.2×10^8
5	7.4×10^9	9.4×10^9	8.8×10^8

ตารางที่ 2 ปริมาณน้ำคาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนน้ำเลี้ยงต่อน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ

เวลา (วัน)	อัตราส่วนน้ำเลี้ยงต่อน้ำ (% โดยปริมาตร)		
	75 : 25	50 : 50	25 : 75
0	15.1	15.4	15.3
1	14.1	14.5	14.2
2	13.7	11.8	13.2
3	10.1	9.6	10.9
4	8.6	7.33	10.1
5	4.6	3.9	8.1

ตารางที่ 3 ปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนน้ำเลี้ยงต่อน้ำในอัตราส่วนต่าง ๆ

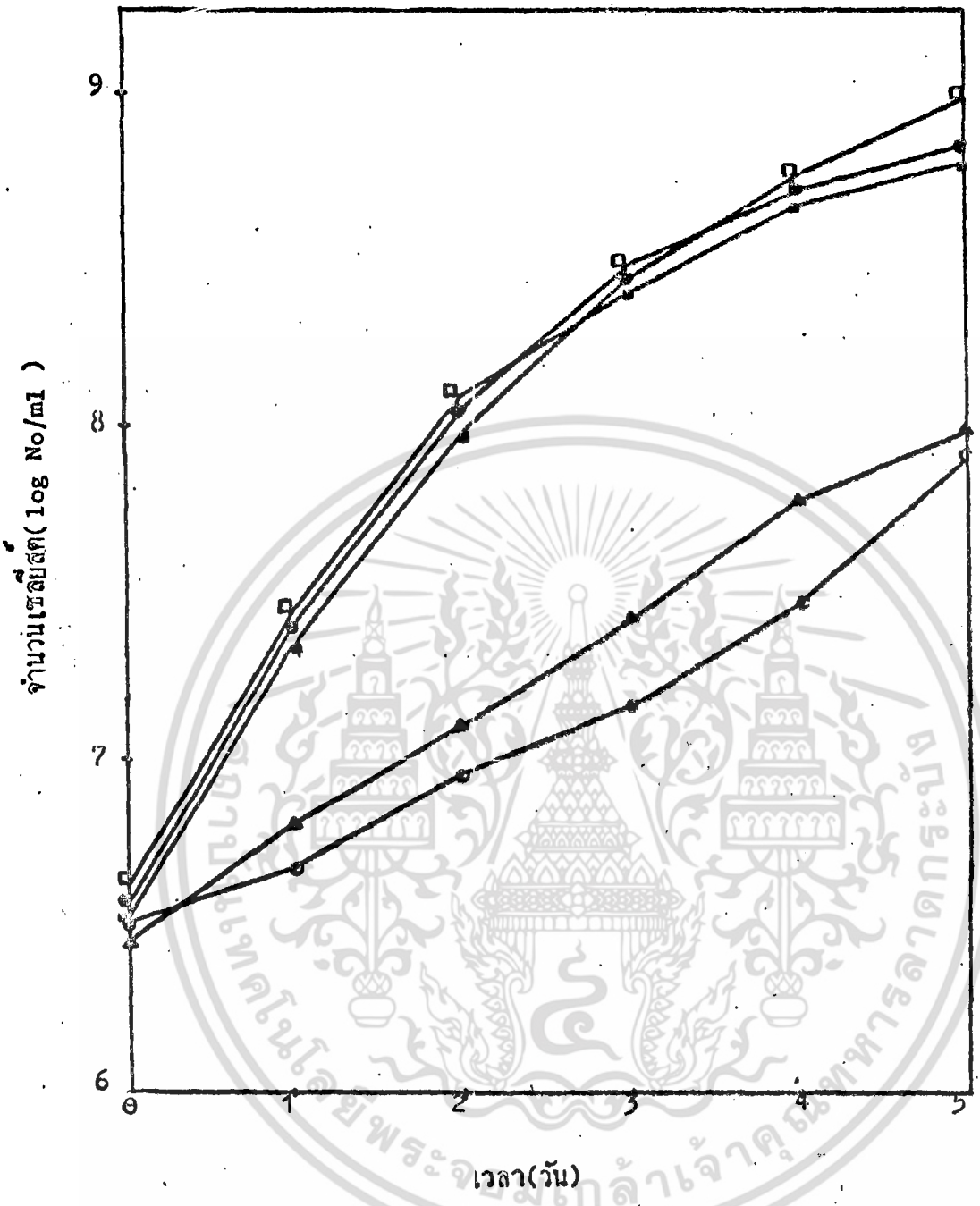
เวลา (วัน)	อัตราส่วนน้ำเลี้ยงต่อน้ำ (% โดยปริมาตร)		
	75 : 25	50 : 50	25 : 75
0	-	-	-
1	0.8	0.9	0.1
2	1.4	1.6	1.0
3	2.9	3.5	2.0
4	3.8	4.7	3.0
5	5.1	5.9	4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบผลรวมเชื้อยีสต์ เริ่มต้นต่อประสิทธิภาพการหมักไวน์ลินจี่ในชั่วโมงที่ 120

เชื้อยีสต์เริ่มต้น (%)	ปริมาณกรด	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือ (%)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (% โดยปริมาตร)
1	0.6	10.1	2.8
2	0.6	5.7	5.0
5	0.6	4.0	6.0
7	0.6	4.2	5.9
10	0.6	5.0	5.4
Control ที่ 0 ชม.	0.6	15.7	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 ผลของปริมาณเชลบีสค เริ่มค่นทอจำนวนเชลบีสคในน้ำหมักใหน่วง เวลาต่าง ๆ

○—○	1	เปอร์เซนต์	◆—◆	7	เปอร์เซนต์
▲—▲	2	เปอร์เซนต์	●—●	10	เปอร์เซนต์
□—□	5	เปอร์เซนต์			

96726

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ปริมาณเซลล์ในน้ำหมักที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในระดับต่าง ๆ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (%)				
	15	20	22	25	30
0	7.8×10^6	8.1×10^6	7.9×10^6	8.0×10^6	8.5×10^6
1	3.7×10^7	2.9×10^7	1.0×10^7	9.9×10^6	-
2	1.1×10^8	9.2×10^7	5.7×10^7	2.4×10^7	-
3	9.9×10^8	3.9×10^8	8.8×10^7	5.0×10^7	-
4	5.4×10^9	1.0×10^9	1.4×10^8	8.2×10^7	-
5	8.9×10^9	5.2×10^9	5.5×10^8	2.4×10^8	-

ตารางที่ 6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือในน้ำหมักระหว่างการหมักที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในระดับต่าง ๆ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น (%)				
	15	20	22	25	30
0	15.4	20.2	22.1	25.1	30.2
1	12.2	18.1	21.2	14.4	30.2
2	11.4	15.5	19.7	24.4	30.2
3	9.9	12.8	17.6	22.8	30.2
4	6.3	10.3	16.1	22.2	30.2
5	4.1	8.2	13.6	21.9	30.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

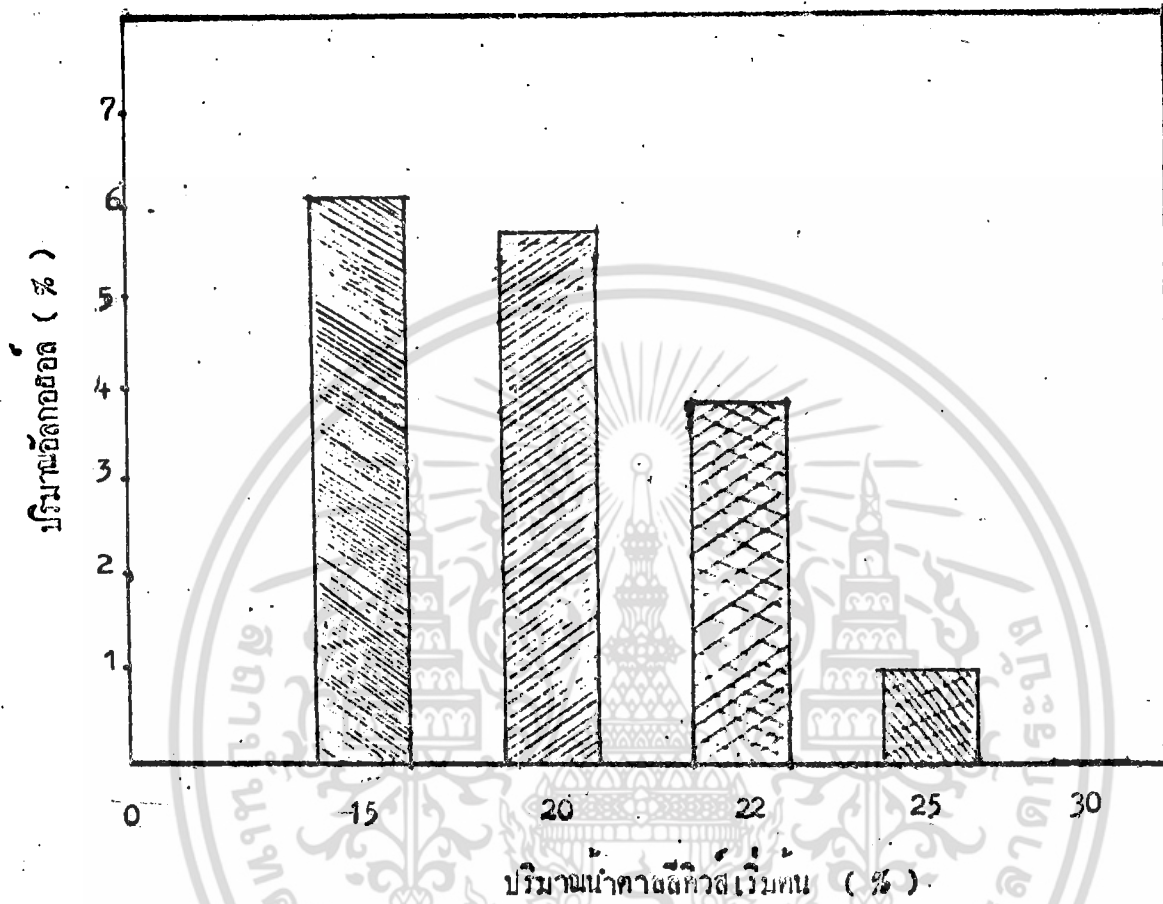
ตารางที่ 7 ปริมาณกรดในน้ำหมักที่มีน้ำตาลกลีโคสเริ่มต้นในระดับต่าง ๆ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลกลีโคสเริ่มต้น (%)				
	15	20	22	25	30
0	0.60	0.62	0.61	0.60	0.62
1	0.60	0.61	0.61	0.60	0.62
2	0.59	0.60	0.61	0.59	0.62
3	0.59	0.60	0.61	0.59	0.62
4	0.60	0.61	0.60	0.60	0.62
5	0.60	0.62	0.61	0.60	0.62

ตารางที่ 8 ผลของการหมักไวน์ดินจิในสภาพที่เหมาะสม

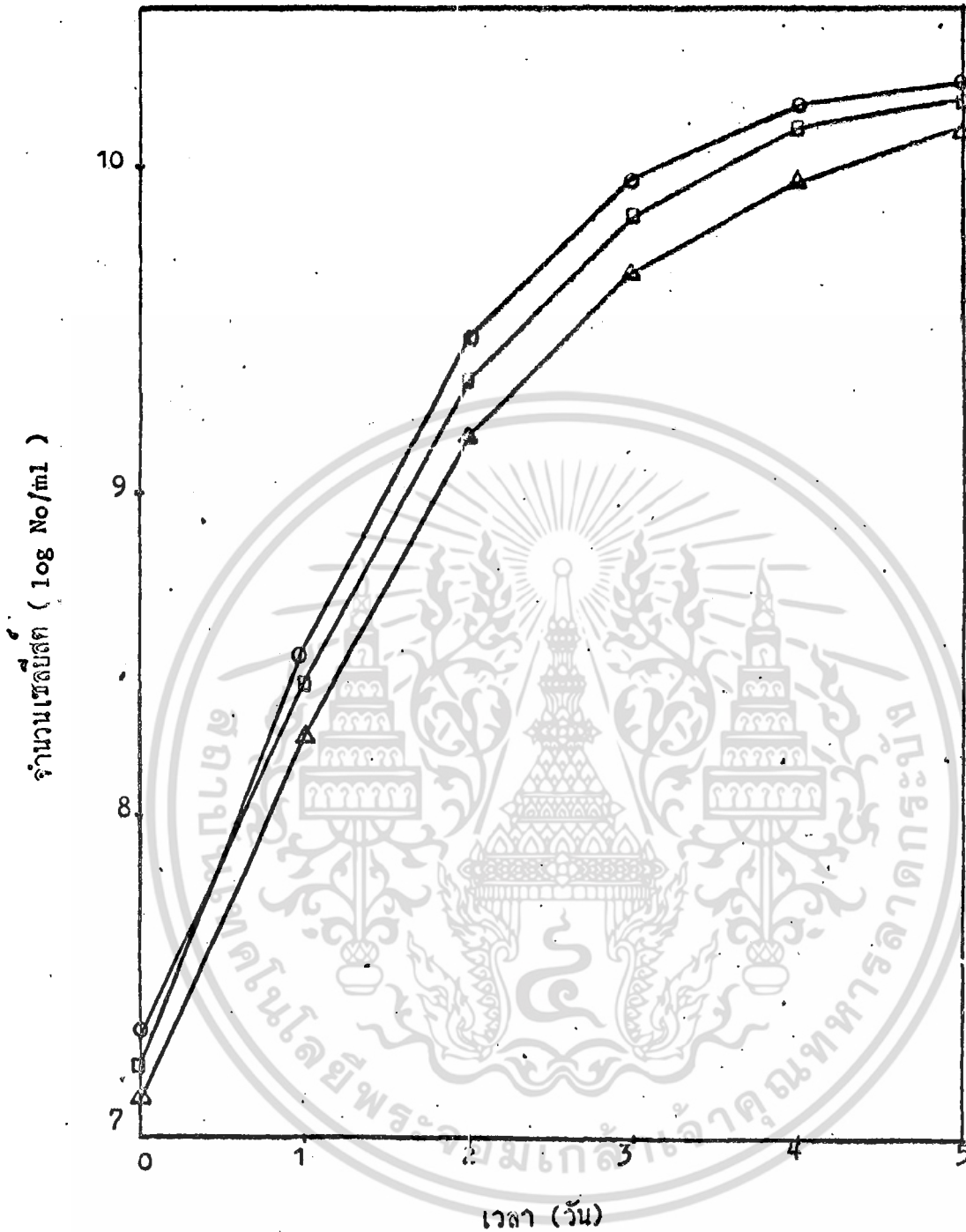
factors	ระยะเวลาในการหมัก (วัน)					
	0	1	2	3	4	5
จำนวนเซลล์ยีสต์	8.3×10^6	2.4×10^7	8.9×10^7	7.1×10^8	4.1×10^9	6.9×10^9
ปริมาณน้ำตาลกลีโคส (%)	15.6	13.2	10.8	9.1	6.6	3.6
ปริมาณแอลกอฮอล์ (% โดยปริมาตร)	0	1.3	2.3	3.4	4.6	6.1
ปริมาณกรด (%)	0.63	0.63	0.61	0.62	0.62	0.63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ผลของปริมาณน้ำที่รดพืช ต่อปริมาณน้ำที่สูญหายที่เกิดขึ้นในภาชนะในชั่วโมงที่ 120

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



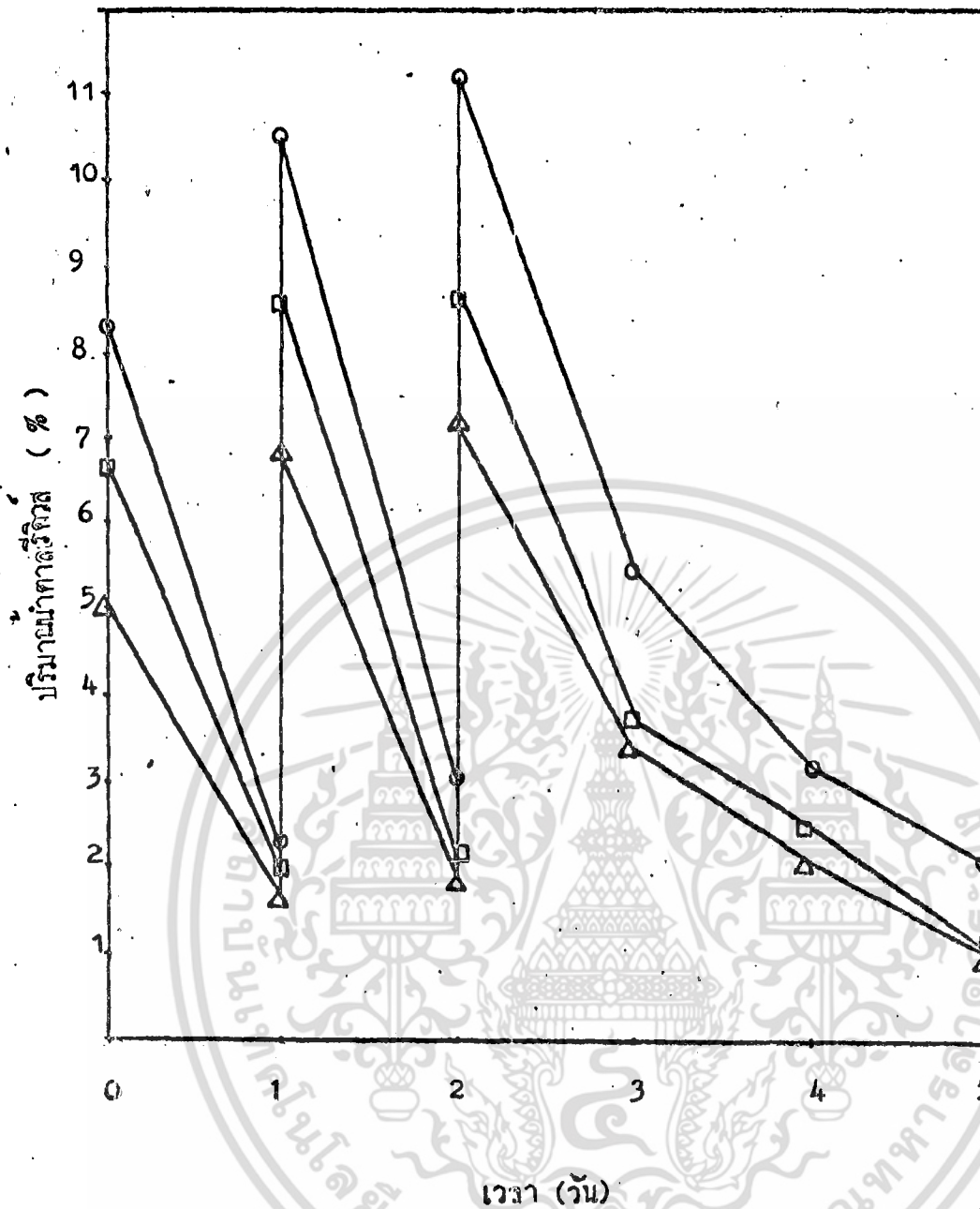
ภาพที่ 4 ผลของการหมักแบบ fed-batch fermentation ต่อจำนวนเซลล์

เมื่อมีการเติมน้ำคาสีหัวรวมในระดับต่าง ๆ

- △—△ น้ำคาสีหัวรวม 15 เปอร์เซ็นต์
- น้ำคาสีหัวรวม 20 เปอร์เซ็นต์
- น้ำคาสีหัวรวม 25 เปอร์เซ็นต์

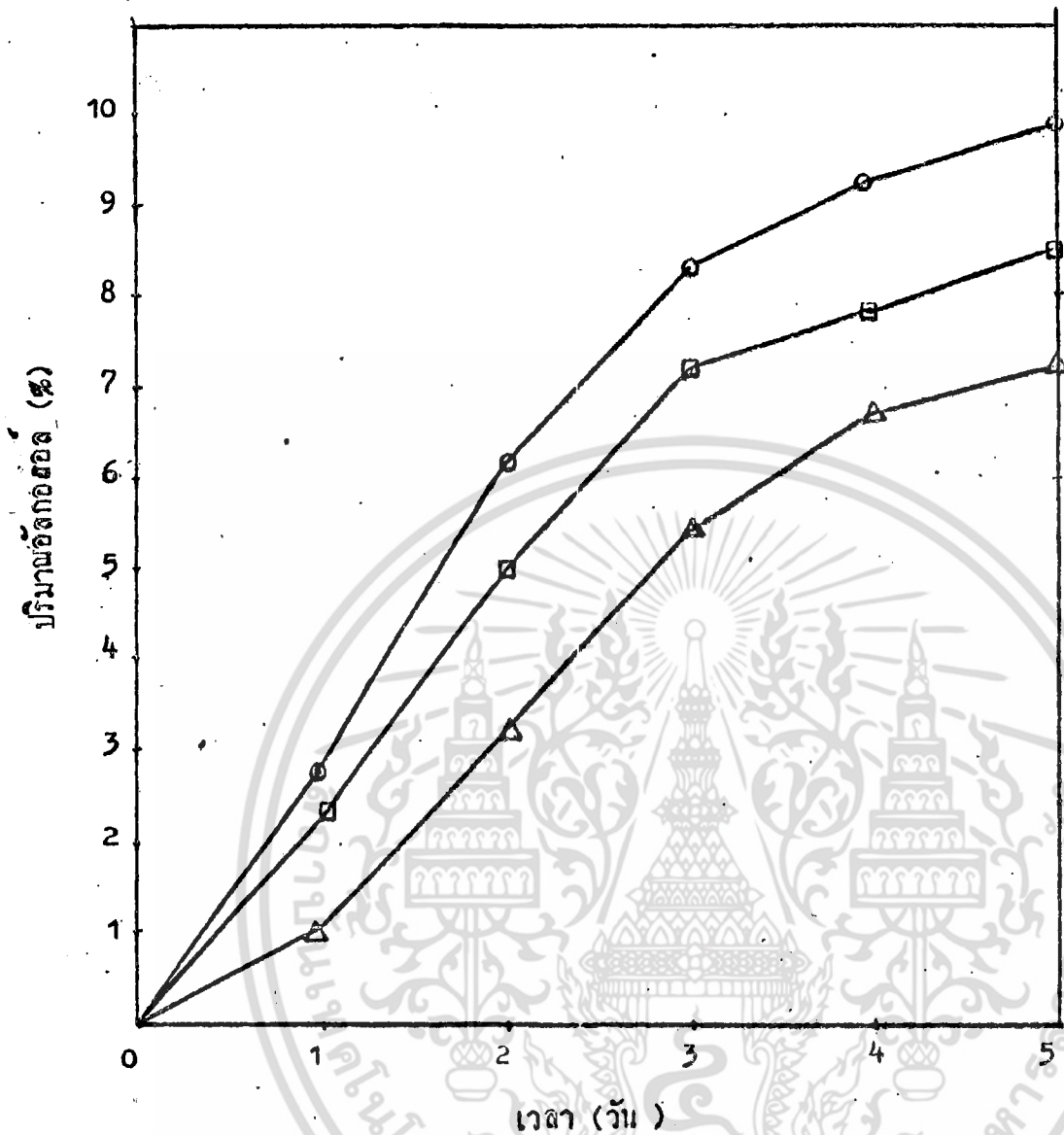
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับวารใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 ปริมาณน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ในน้ำหมักที่มีการหมักแบบ fed-batch fermentation เมื่อมีการเติมน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ในระดับต่าง ๆ

- Δ—Δ น้ำตาลที่ละลายน้ำได้ 15 เปอร์เซ็นต์
- น้ำตาลที่ละลายน้ำได้ 20 เปอร์เซ็นต์
- น้ำตาลที่ละลายน้ำได้ 25 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 6 ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักแบบ fed-batch fermentation

เมื่อมีการเติมน้ำตาลที่ว้สรวมในระกัฒต่าง ๆ

- △—△ น้ำตาลที่ว้สรวม 15 เปอร์เซ็นต์
- น้ำตาลที่ว้สรวม 20 เปอร์เซ็นต์
- น้ำตาลที่ว้สรวม 25 เปอร์เซ็นต์

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองหาอัตราส่วนน้ำลินจี่ต่อน้ำที่ เหมาะสมในการหมักไวน์ลินจี่ปรากฏว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดคืออัตราส่วน 50 : 50 โดยปริมาตร ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่เท่ากัน ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด รองลงมาคืออัตราส่วน 75 : 25 และ 25 : 75 ตามลำดับ โดยที่อัตราส่วน 25 : 75 มีปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำมาก การเพิ่มจำนวนเซลล์ยีสต์ที่หมัก ทั้งนี้เป็นเพราะว่าน้ำลินจี่ถูกเจือจางลงไปมากทำให้เกลือแร่ วิตามินและสารอาหารบางชนิดมีอยู่น้อยมาก ไม่เพียงพอต่อความต้องการของเชื้อยีสต์ ถึงแม้จะมีความเข้มข้นของน้ำตาลพอเพียงก็ตาม (วรารุณี, 2529) ดังนั้นในการหมักไวน์ผลไม้แต่ละชนิดจึงมีอัตราส่วนระหว่างน้ำผลไม้กับน้ำแตกต่างกันไป

ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่เหมาะสมในการหมักไวน์ลินจี่ พบว่าปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดคือ 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในน้ำหมักที่มีแอลกอฮอล์และการเพิ่มจำนวนของเซลล์ยีสต์ที่ลดลงด้วย รองลงมาคือ น้ำหมักที่มีเชื้อยีสต์เริ่มต้นเท่ากับ 7, 10, 2 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าการใช้ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่มากเกินไปไม่มีผลทำให้การหมักมีประสิทธิภาพสูงขึ้นได้ ทั้งนี้เพราะการใช้เชื้อยีสต์เริ่มต้นในปริมาณสูง จะทำให้เชื้อยีสต์นำน้ำตาลไปใช้ในการเจริญเติบโตของมัน จึงทำให้ปริมาณน้ำตาลที่วัดผลลดลงอย่างรวดเร็ว การหมักจึงได้ปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำ นอกจากนี้ การใช้เชื้อยีสต์เริ่มต้นที่มากเกินไป จะทำให้การหมักเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและอุณหภูมิในการหมักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จึงทำให้ เป็นอันตรายต่อเชื้อยีสต์ที่เติมลงไป (Alfred, 1906) แต่หากใช้ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นน้อยเกินไป เช่น 1 เปอร์เซ็นต์ การหมักจะมีประสิทธิภาพสูง ต่อเมื่อน้ำผลไม้จะนำมาหมักไวน์ปราศจากเชื้อปนเปื้อนอื่น ๆ เช่น ยีสต์ป่า (wild yeasts) และแบคทีเรีย นอกจากนี้การหมักจะเป็นไปอย่างช้า ๆ เพราะเชื้อยีสต์มีน้อยกว่าจะเจริญมากขึ้นต้องใช้เวลาาน หากมีเชื้อยีสต์ปนเปื้อนลงไป ก็จะทำให้การหมักเสียไป ดังนั้นจึงควรเลือกใช้ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่เหมาะสมคือ 5 เปอร์เซ็นต์

สำหรับน้ำตาลรีเวิร์สเริ่มต้นที่เหมาะสม พบว่าในน้ำหมักที่มีปริมาณน้ำตาลรีเวิร์สเริ่มต้นเท่ากับ 15 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด และมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ยีสต์มากที่สุดด้วย จึงใช้ปริมาณน้ำตาลรีเวิร์สเริ่มต้น 15 เปอร์เซ็นต์ในการหมักต่อไป ส่วนในน้ำหมักที่มีปริมาณแอลกอฮอล์และจำนวนเซลล์ยีสต์รองลงมาคือในน้ำหมักที่มีปริมาณน้ำตาลรีเวิร์สเริ่มต้นเท่ากับ 20, 22 และ 25 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลำดับ สำหรับในน้ำหมักที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ ไม่เกิดการหมักขึ้นมา ทั้งนี้เพราะเชื้อยีสต์ไม่อาจจะเจริญได้ เนื่องจากมีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงจึงเกิด Osmotic pressure จนเป็นอันตรายต่อเซลล์ยีสต์ (วรารุณี, 2529) นอกจากนี้จะสังเกตได้ว่าจำนวนเซลล์ยีสต์จะเพิ่มขึ้นในอัตราที่ต่ำ ในน้ำหมักที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 22 และ 25 เปอร์เซ็นต์ เพราะปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เข้มข้นมากขึ้นจะมีผลต่อการเจริญของเซลล์ยีสต์ ดังกล่าว ดังนั้นในการหมักไวน์ให้ได้อัลกอฮอล์สูง ไม่ได้นัยความว่าจะต้องเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลให้มากขึ้น แล้วจะโดยผลการหมักแอลกอฮอล์สูงตามไปด้วย เชื้อยีสต์จะทนความเข้มข้นของน้ำตาลได้ระดับหนึ่งเท่านั้น ในการทดลองครั้งนี้ จึงพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดคือ 15 เปอร์เซ็นต์

การหมักไวน์ลินจี่ในสภาพที่เหมาะสมพบว่าสภาพที่เหมาะสมในการหมักคือใช้อัตราส่วนน้ำลินจี่ต่อน้ำ 50 : 50 (โดยปริมาตร) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 15 เปอร์เซ็นต์ ปรบพีเอช 3.5 ปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ทำการหมักเป็นเวลา 5 วัน พบว่า ผลการหมักได้ปริมาณอัลกอฮอล์ 6.1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ถูกใช้ไป 13.0 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ความหนืดของน้ำตาลรีดิวซ์ 100 เปอร์เซ็นต์จะถูกเปลี่ยนเป็นอัลกอฮอล์ 51.1 เปอร์เซ็นต์ คาร์บอนไดออกไซด์ 48.9 เปอร์เซ็นต์ แต่ในทางปฏิบัติจะได้อัลกอฮอล์ประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ของทางทฤษฎี (วรารุณี, 2529) เพราะฉะนั้นในการทดลองครั้งนี้จะได้ปริมาณอัลกอฮอล์เท่ากับ 6.3 เปอร์เซ็นต์แตกต่างจากการทดลองได้ปริมาณอัลกอฮอล์เท่ากับ 6.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถือว่ามีความใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นสภาพการหมักที่ใช้น้ำลินจี่เหมาะสมสำหรับการหมักไวน์ลินจี่

การหมักแบบ fed-batch fermentation พบว่าการหมักในสภาพนี้จะเพิ่มประสิทธิภาพการหมักขึ้นโดยทำให้สามารถใส่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในความเข้มข้นที่สูงได้ ทั้งนี้โดยอาศัยการเติมน้ำตาลเป็นช่วง ๆ ในการทดลองครั้งนี้ น้ำหมักที่ใส่ปริมาณอัลกอฮอล์และมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ยีสต์สูงสุดคือ น้ำหมักที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์รวม 25 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้โดยมีการเติมน้ำตาลเป็น 3 ช่วง ทุก ๆ 24 ชั่วโมง ส่วนในน้ำหมักที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์รวม 20 และ 15 เปอร์เซ็นต์ให้ยีสต์ลงมา ในการหมักไวน์ตามปกติเมื่อใส่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณอัลกอฮอล์และการเพิ่มจำนวนเซลล์ยีสต์ต่ำกว่าที่ 15 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในการหมักไวน์ที่ของการเปอร์เซ็นต์อัลกอฮอล์สูง ซึ่งจำเป็นต้องใส่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงจึงสามารถทำได้โดยวิธีการหมักแบบ fed-batch fermentation นี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. การเตรียมน้ำเลี้ยงเพื่อเก็บรักษาไว้นาน ๆ สามารถทำโคโคทอยเติมโปรคัสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ ในปริมาณที่มากกว่า 200 ppm. เมื่อนำน้ำเลี้ยงมาใช้ ให้ทำการแยก ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ออกก่อน
2. การหมักไว้น้ำเลี้ยงสามารถจะหมักทิ้งเปลือกได้ เมื่อการหมักผ่านไป 2 วันแล้วต้องแยกเอาเปลือกออกทันที
3. การเติมแอมโมเนียมซัลเฟต สามารถเติมได้ถึง 0.1 % และมีผลให้ประสิทธิภาพการหมักดีขึ้นด้วย
4. การหมัก fed-batch fermentation อาจจะมีปริมาณน้ำตาลริทิวส์เริ่มต้นโคสูงถึง 15 - 20 เปอร์เซ็นต์ แต่การเติมครั้งต่อไป จะต้องหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเติม เพื่อไม่ให้มีปริมาณน้ำตาลริทิวส์เข้มข้นมากเกินไป จนเป็นอันตรายต่อเซลล์สติกโค



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- ประสิทธิ์ คุ้มฉกา. 2520. เอกสารไวน์. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 28 หน้า
- ประสิทธิ์ คุ้มฉกา. 2525. ไวน์ผลไม้เกษตร. วารสารชมรมผู้หมักแอลกอฮอล์แห่งประเทศไทย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ หน้า 24 - 32.
- ปัญญา โพธิ์รัฐรัตน์. 2530 สุตร : เกษตรอุตสาหกรรมประยุกต์. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร. คณะวิชาเกษตรอุตสาหกรรม สหวิทยาลัยรัตนโกสินทร์จันทรม หน้า 80 - 91.
- นิรนาม. 2522. เอกสารประกอยการบรรยายเรื่องดินจังหวัดไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 10 หน้า.
- นิตยภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. 2529. เอกสารทำไวน์ผลไม้. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 7 หน้า.
- ลูกจันทร์ ภักธิรัตน์. 2522. อุตสาหกรรมอาหารหมักคอง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- วรารุณี คุรุสง. 2529. เทคโนโลยีชีวภาพ. สำนักพิมพ์โอเพียนสโตร์ กรุงเทพฯ.
- Alfred. 1906. Industrial fermentations. Chemical Publishing Co, Inc. New york. P. 82
- Amerine, M.A. 1960. Technology of wine making. 3th ed. AVI Publishing Com, Inc. Connecticut. - 250 ps.
- Amerine, M.A. and C.S. Ough. 1980. Methods for analysis of masts and wine. University of California. p 100 - 212.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A.O.A.C. 1975. Official method of analysis. 12th ed. Washington,
D.C. George Banta Co., Inc.

Vine and Richard. 1981. Commercial wine making processing and controls.
AVI Publishing Com., Inc. Connecticut. p. 98 - 193.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การวิเคราะห์หาความเป็นกรดในไวน์ดอง (Titration method, AOAC : 1975)

1.1 ใช้น้ำล้นหรือไวน์ล้นจ้วบ pipette จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำที่ต้มใส่อากาศออกแล้ว 49 มิลลิลิตร หยด phenolphthalein (1 %) จำนวน 1 - 3 หยด เขย่าให้เข้ากัน

1.2 นำสารละลายไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน ตั้งทิ้งไว้ 1 นาทีที่ไม่เปลี่ยนแปลง นั่นคือ End point นำปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ใช้ไป มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดตามสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ Acidity} = \frac{\text{mlNaOH} \times \text{NormalityNaOH} \times \text{Equivalent wt. of acid} \times 100}{\text{ml(organ) of Sample} \times 100}$$

2. การหาเปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) โดยวิธี Lane and Eynon (AOAC, 1975)

2.1 เตรียมสารละลายน้ำตาลกลูโคส 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยละลายน้ำตาลกลูโคสจำนวน 5 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตรใน Volumetric flask ขนาด 1 ลิตร เขย่าให้น้ำตาลกลูโคสละลายหมดแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

2.2 เตรียมสารละลาย Fehling solution A, B เตรียม Fehling solution A โดยละลาย copper sulphate (CuSO_4) 69.278 กรัม ด้วยน้ำกลั่น ใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้เต็ม 1 ลิตร Fehling solution B เตรียมโดยละลาย Sodium potassium tartrate 346 กรัมด้วยน้ำกลั่น แล้วเติม Sodium hydroxide 100 กรัม เขย่าให้ละลายหมดแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

2.3 หาค่า Standardize ของสารละลายน้ำตาลกลูโคส 0.5 เปอร์เซ็นต์ที่ Fehling solution A, B อย่างละ 5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วเติมลูกแล้ว 3 - 4 เม็ด ป้องกันการเดือดก่อนที่เดือดเวลาไทเทรต ใช้เวลาในการไทเทรตไม่เกิน 5 นาที สารละลาย Fehling solution จะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีแดงอิฐ หยด Methylene blue เป็น indicator 3 หยด ไทเทรตต่อไปจนเป็นสีแดงอิฐเหมือนเติมปริมาตรของสารละลายกลูโคสที่ใช้ไปคือค่า standardize ซึ่งจะมีค่า 10 ± 0.1

2.4 บีบเปิด ตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตรใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร (กรณีตัวอย่างมีเปอร์เซ็นต์น้ำตาลสูงมากให้ทำการเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นแล้วจึงคูณมา 1 มิลลิลิตร)

เปิด Fehling solution A, B เติมลงไปยังตะ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเติมลูกแก้ว 3-4 เม็ดนำไปไทเทรตกับสารละลายกลูโคส 0.5 เปอร์เซ็นต์ เริ่มทำการไทเทรตเมื่อสารละลายตัวอย่าง เริ่มเคอคใช้เวลาไม่เกิน 5 นาที สารละลายตัวอย่างจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีน้ำตาลแดง จากนั้นหยด Methyleneblue 3 หยด ไทเทรตต่อไปจนสารละลายเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลแดง นั่นคือ end point.

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์} = A - B$$

เมื่อ A คือค่า standardize สารละลายน้ำตาลกลูโคส 0.5 เปอร์เซ็นต์

B คือ ปริมาณของสารละลายกลูโคส 0.5 เปอร์เซ็นต์ที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง

3. วิธีวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ ตามวิธีของ Ametina and Ough (1980)

ใช้หลักการให้สารโครเมตอกซิโคแอลกอฮอล์ในสภาพที่เป็นกรดไหลกลายเป็นกรดอะซิติก ดัง สมการ



โครเมตที่เหลือจะถูกรีดิวซ์โดยวิธีไทเทรตกับเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตดังนี้



3.1 สารละลายโครเมต เตรียมโดยเติมน้ำกลั่นประมาณ 400 มิลลิลิตร ลงใน Volumetric flask ขนาด 1 ลิตร แล้วเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 325 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 80 - 90 °C. เติมโปตัสเซียมโครเมต 33.768 กรัม เขย่าให้ละลายเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1 ลิตร

3.2 สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต เตรียมโดยละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่มีน้ำ 6 โมเลกุล ($\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 135.5 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ใน Volumetric flask ขนาด 1 ลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 30 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3.3 สารละลาย 1, 10-phenanthroline-ferrous sulfite indicator เตรียมโดยเติม Ferrous sulfate $7\text{H}_2\text{O}$ 0.695 กรัมในน้ำกลั่น 50 ml เติม 10-phenanthroline 1.485 กรัม คนให้ละลายปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การกลั่น ใช้ Microdistillation apparatus

3.4.1 บีเปิดสารละลายโคโครเมต 25 มิลลิลิตร ใส่ flask ขนาด 50 มิลลิลิตร ไปรองรับ distillate โดยให้ปลายเครื่องควบแน่นของเครื่องกลั่นจมอยู่ในสารละลายโคโครเมต

3.4.2 บีเปิดตัวอย่างที่จะหาปริมาณแอลกอฮอล์ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดแก้วสำหรับกลั่น ตัวอย่างที่ติดอยู่ลงในหลอดแก้วควบแน่นหลาย ๆ มิลลิลิตรจนเป็นปริมาตรน้ำ 1 ใน 3 ของปริมาตรทั้งหมดของหลอดแก้ว

3.4.3 กลั่นจนกระทั่งปริมาตรของเหลวที่ควบแน่นออกมาใน flask ที่รองรับ distillate มีปริมาตร 15 มิลลิลิตร จึงนำ flask ออกแช่ใน water bath อุณหภูมิ 60°C นาน 20 - 25 นาที การออกซิโคสก็จะสมบูรณ์

3.4.4 นำไปไตเตรทกับสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตเจมีซีเขียวจึงหยดสารละลาย indicator ลงไป 2 - 3 หยด ไตเตรทจนกระทั่งสีเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลม่วงนั่นคือ end point

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณแอลกอฮอล์ (ml/100 ml)} = 25 - \left(25 \frac{A}{B}\right)$$

$$\text{หรือ ปริมาณแอลกอฮอล์ (gm/100 ml)} = 25 - \left(25 \frac{A}{B}\right) \frac{7.933}{10}$$

เมื่อ A คือ ปริมาตรของเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ไรไตเตรทกับโคโครเมตที่
เหลือจากการทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์

B คือ ปริมาตรของเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ไรไตเตรทกับ blank (น้ำกลั่น)

4. การหาจำนวนเซลล์สัตว์ด้วยวิธี Haemocytometer

ใช้ Counting Chamber ซึ่งมีช่องใหญ่ 25 ช่อง แต่ละช่องใหญ่จะมี 16 ช่องเล็ก มีความลึก 0.1 มิลลิเมตรพื้นที่ทั้งหมด 1 ตารางมิลลิเมตร มีปริมาตรเท่ากับ 0.1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร คิดเป็น 0.1×10^3 ลูกบาศก์เซนติเมตร

4.1 บีเปิดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรใส่หลอดทดสอบ ถ้าตัวอย่างมีจำนวนเซลล์มากให้ทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นก่อน เติม Methylene blue 10 เปอร์เซ็นต์ลงไป 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เซลล์กระจาย

4.2 คุกสารละลายตัวอย่างใส่ใน Counting chamber แล้วนำไปตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า การตรวจนับจะสมทัวอย่างนับแบบภาชนะบาทหรือตัว x แบบซีกแฉกหรือตัว z ก็ได้เพื่อไม่ให้ของที่นับซ้ำกัน

การคำนวณ

สมมติให้ของใหญ่เป็นจำนวน N ของ นับได้จำนวน n cells
 ไซสุตร จำนวนเซลล์ = $4x \cdot 10^6 (D)$ cells/ml
 เมื่อ $X = \frac{n}{N}$
 $D =$ การเจือจางตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้