



ปัญหาพิเศษ

การแยกเชื้อยีสต์ที่ให้กลิ่นรสจากดอกไม้เพื่อใช้ในการหมักไวน์สับปะรด
(Isolation of Flavor Yeast from Flowers for Pineapple Wine Making)

จัดทำโดย

นางสาวเมธิณี เถลิงรัมย์ รหัสประจำตัว 43040653

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

Faculty of Agricultural Industry

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพฯ 10520

King Mongkut's Institute of
Technology Ladkrabang
Bangkok 10520 Thailand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การแยกเชื้อยีสต์ที่ให้กลิ่นรสจากดอกไม้เพื่อใช้ในการหมักไวน์สับปะรด
(Isolation of Flavor Yeast from Flowers for Pineapple Wine Making)

จัดทำโดย

นางสาวเมธิณี เถลิงรัมย์ รหัสประจำตัว 43040653

ได้รับความเห็นชอบจาก

๒๕ ธ.ค. ๒๕๖๗

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(ดร.บุญเทียม พันธุ์เฟื่อง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแยกเชื้อยีสต์ที่ให้กลิ่นรสจากดอกไม้เพื่อใช้ในการหมักไวน์สับปะรด
(Isolation of Flavor Yeast from Flowers for Pineapple Wine Making)



T097081

นางสาวเมธิณี เถลิงรัมย์ รหัสประจำตัว 43040653

ปพ.
๗๗๓๕ก
๒๕๔๗

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 97081
วันเดือนปี.....

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)
พ.ศ. ๒๕๔๗

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมธิณี เกลิงรัมย์,2547 : การแยกเชื้อยีสต์ที่ให้กลิ่นรสจากดอกไม้เพื่อใช้ในการหมักไวน์สับปะรด (Isolation of Flavor Yeast from Flowers for Pineapple Wine Making) สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง : ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง

แยกเชื้อยีสต์ที่ให้กลิ่นรสจากตัวอย่างที่เก็บจากบริเวณสวนลาดกระบัง,บริเวณคณะเทคโนโลยีการเกษตร และบริเวณหอพักนักศึกษาสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยใช้อาหารอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยมอลต์สกัด 5 กรัม, ยีสต์สกัด 3 กรัมและน้ำตาลซูโครส 200 กรัม พบเชื้อยีสต์ในดอกแก้วและดอกเข็มสีเหลือง จากนั้นนำมาแยกให้เป็นโคโลนีเดี่ยวแล้วนำมาหมักไวน์เปรียบเทียบกับไวน์ที่หมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. montrachet ซึ่งนำมาทดลองหมักครั้งนี้ คือ หมักโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* var. montrachet, ยีสต์จากดอกแก้ว, ยีสต์จากดอกเข็ม, *S. cerevisiae* var. montrachet + ยีสต์จากดอกแก้ว, *S. cerevisiae* var. montrachet + ยีสต์จากดอกเข็ม, ยีสต์จากดอกแก้ว ทั้งไว้ 24 ชั่วโมงแล้วเติม *S. cerevisiae* var. montrachet และยีสต์จากดอกเข็มทั้งไว้ 24 ชั่วโมงแล้วเติม *S. cerevisiae* var. montrachet จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคทั้งหมด 25 คนในด้าน กลิ่น รสชาติ ลักษณะปรากฏ และการยอมรับโดยรวม สรุปได้ว่าผู้บริโภคให้การยอมรับไวน์ที่หมักจากเชื้อ *S. cerevisiae* var. montrachet มากที่สุดรองลงมาคือไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกเข็ม, ไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกเข็มแล้วตามด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* var. montrachet, ไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกแก้วแล้วตามด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* var. montrachet, ไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกเข็ม+ *S. cerevisiae* var. montrachet, ไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกแก้ว+ *S. cerevisiae* var. montrachet และไวน์ที่หมักจากเชื้อยีสต์จากดอกแก้ว

สรุปว่าการหมักไวน์โดยใช้เชื้อยีสต์ที่ให้กลิ่นรสที่แยกจากธรรมชาติสามารถหมักไวน์ได้แต่คุณภาพโดยรวมของไวน์ยังไม่ดีเท่าไวน์ที่หมักจากเชื้อ *S. cerevisiae* var. montrachet

เมธิณี เกลิงรัมย์

บุญเทียม พันธุ์เพ็ง

น.ศ. น.ศ. น.ศ.

ลายมือชื่อนักศึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.บุญเทิ้ม พันธุ์เพ็ง อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่ได้สละเวลา เวลาให้ความรู้ ความเข้าใจ ให้คำปรึกษาการเสนอและข้อเสนอแนะต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่อการ ทำปัญหาพิเศษครั้งนี้เป็นอย่างยิ่ง รวมทั้งได้ตรวจแก้ไขปัญหาพิเศษจนสำเร็จลุล่วงอย่างสมบูรณ์

ขอกราบพระคุณบิดาและมารดา ที่ให้ทุนทรัพย์เพื่อใช้จ่ายในการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้ ตลอดจนกำลังใจต่างๆที่มีให้ด้วยดีเสมอมา และขอบคุณเพื่อนๆที่มีส่วนช่วยให้ปัญหาพิเศษสำเร็จ ได้ด้วยดี ไม่ว่าจะเป็นการคอยให้การช่วยเหลือในด้านข้อมูล และข้อเสนอแนะอันเป็นประโยชน์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1	1
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	1
บทที่ 2	2
วารสารปริทัศน์	2
2.1 ขั้นตอนหลักในการหมักไวน์	2
2.2 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการหมักไวน์	6
2.3 สารที่ให้กลิ่นรสและสารที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักไวน์	8
2.4 ดอกไม้ที่นำมาคัดเลือกเชื้อยีสต์	9
บทที่ 3	
การทดลอง	14
3.1 การเก็บตัวอย่าง	14
3.2 การแยกเชื้อบริสุทธิ์	16
3.3 การเตรียม starter เพื่อใช้ในการหมักไวน์สับประรด	18
3.4 การเตรียมน้ำสับประรดเพื่อใช้ในการหมักไวน์สับประรด	19
3.5 การทดลองการหมักไวน์โดยใช้เชื้อ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> motrachet และเชื้อยีสต์ที่แยกได้	20
3.6 การเก็บตัวอย่าง	21
3.7 การวิเคราะห์ตัวอย่าง	21
3.8 การศึกษาประสิทธิภาพของวัตถุดิบเสียในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYB ที่มีเชื้อยีสต์ต่างกัน	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.9 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค	22
บทที่ 4	
ผลการทดลอง	24
4.1 ลักษณะพื้นฐานของยีสต์	24
4.2 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์, pH, °Brix และ ปริมาณเชื้อยีสต์ที่มีชีวิตที่นับได้	25
4.3 การศึกษาประสิทธิภาพของการทนต่อวัตถุดิบเลี้ยงของเชื้อยีสต์	31
4.4 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค	32
บทที่ 5	
4.5 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ Acetaldehyde	33-1
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	34
ข้อเสนอแนะ	35
เอกสารอ้างอิง	36
ภาคผนวก	37
ภาคผนวก ก	38
ภาคผนวก ข	39
ภาคผนวก ค	42
ประวัติผู้เขียน	43



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1. แสดงค่านัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของปริมาณแอลกอฮอล์	25
ตารางที่ 2. แสดงค่าความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของปริมาณแอลกอฮอล์	26
ตารางที่ 3. แสดงค่านัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของค่าความเป็นกรด-เบส	27
ตารางที่ 4. แสดงค่าความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของค่าความเป็นกรด-เบส	27
ตารางที่ 5. แสดงค่านัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของค่า°Brix	28
ตารางที่ 6. แสดงค่าความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของค่า°Brix	29
ตารางที่ 7. แสดงค่านัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของปริมาณเชื้อยีสต์ที่ตรวจนับได้	30
ตารางที่ 8. แสดงค่าความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของปริมาณเชื้อยีสต์ที่ตรวจนับได้	30
ตารางที่ 9. แสดงประสิทธิภาพของการทนต่อ Potassium sorbate เชื้อยีสต์	31
ตารางที่ 10. แสดงประสิทธิภาพของการทนต่อ Potassium metabisulfite เชื้อยีสต์	31
ตารางที่ 11. แสดงค่านัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% การทดสอบทางประสาทสัมผัส	32
ตารางที่ 12. แสดงค่าการยอมรับและความแตกต่าง องแต่ละปัจจัยในแต่ละตัวอย่าง	33
ตารางที่ 13. แสดงการเปรียบเทียบ Acetaldehyde	33-1

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 แผนภูมิการผลิตไวน์จากผลไม้	5
รูปที่ 2. แสดงหมักดองผลไม้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย มอลต์สกัด 5 กรัม, ยีสต์สกัด 3 กรัม และ น้ำตาลซูโครส 200 กรัม	15
รูปที่ 3. แสดงหมักดองผลไม้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อหมักได้ 24 ชั่วโมง	16
รูปที่ 4. เขี่ยเชื้อจากหลอดทดลอง streak บนอาหาร PDA	17
รูปที่ 5. เชื้อยีสต์โค โคโนเดียวที่แยกได้ใน slant ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA	18
รูปที่ 6. starter เตรียมจากน้ำสับประรดที่ปรับ °Brix ,pH, เติม DAP แล้ว autoclave แต่ละฟลาสก์มีปริมาตร 5% ของน้ำสับประรดที่ใช้หมักไวน์ หมักที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมง	19
รูปที่ 7. ไวน์สับประรดหมักที่อุณหภูมิห้องได้ 6 วัน	21
รูปที่ 8. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Montrachet	24
รูปที่ 9. ยีสต์จากดอกแก้ว	24
รูปที่ 10. ยีสต์จากดอกเข็ม	24
รูปที่ 11. กราฟแสดงปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์สับประรด ณ เวลาต่างๆ	25
รูปที่ 12. กราฟแสดงค่าความเป็นกรด-เบสในไวน์สับประรด ณ เวลาต่างๆ	26
รูปที่ 13. กราฟแสดงค่า °Brix ในไวน์สับประรด ณ เวลาต่างๆ	28
รูปที่ 14. กราฟแสดงปริมาณเชื้อยีสต์ที่ตรวจนับได้ในไวน์สับประรด ณ เวลาต่างๆ	29

บทที่ 1

บทนำ

การใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการหมักไวน์ มีวิธีการใช้ 2 วิธี

1. ใช้จุลินทรีย์ตามธรรมชาติ จุลินทรีย์หลากหลายตามธรรมชาติจะพบที่ผิวของผลไม้ โดยเฉพาะผลไม้ที่สุกจัดหรือแก่จัด มีรสหวาน ผลไม้ที่ผิวแตกหรือซำ เมื่อทำการคั้นเอาน้ำผลไม้ ปล่อยให้ทิ้งไว้ น้ำผลไม้จะเกิดการหมักเองโดยจุลินทรีย์ที่ติดมากับผลไม้ จุลินทรีย์ในอากาศและจุลินทรีย์ที่อยู่บนผิวภาชนะหรืออุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมน้ำผลไม้หรือภาชนะที่ใช้หมัก ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์เหล่านี้ไม่แน่นอน แตกต่างตามสภาพแวดล้อม อุณหภูมิและความชื้น เป็นต้น ทำให้ได้ไวน์ที่มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ บางครั้งมีคุณภาพยอดเยี่ยมมาก เนื่องจากกลั่นรสที่ซับซ้อนเกิดจากจุลินทรีย์หลากหลายชนิดตามธรรมชาติช่วยกันหมัก แต่ส่วนใหญ่ไวน์ที่ได้มักมีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ บูดเสียเป็นการเสี่ยงในการผลิตไวน์ในอุตสาหกรรม
2. ใช้จุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่คัดเลือกแล้ว จุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในการผลิตไวน์ได้แก่ เชื้อยีสต์ส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* มีหลายสายพันธุ์ ซึ่งจะได้ไวน์ที่มีคุณภาพสม่ำเสมอว่า นิยมใช้ผลิตไวน์ในอุตสาหกรรม

จะเห็นได้ว่าการผลิตไวน์ทั้ง 2 วิธีมีข้อดีต่างกันผู้ทำการทดลองจึงได้ศึกษาและทดลองแยกยีสต์ที่ให้กลิ่นรสจากธรรมชาติหมักร่วมกับเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* เพื่อเพิ่มกลิ่นรสในไวน์สับปะรด และเพื่อให้เป็นประโยชน์แก่ผู้ที่นำไปศึกษาต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อแยกเชื้อยีสต์จากน้ำหวานของดอกไม้เพื่อใช้ในการหมักไวน์สับปะรด
2. เพื่อทดลองหมักไวน์สับปะรดโดยใช้ยีสต์ที่แยกได้ร่วมกับเชื้อยีสต์ที่ใช้หมักไวน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2 วารสารปริทัศน์

2.1 ขั้นตอนหลักในการผลิตไวน์ มี 9 ขั้นตอน

2.1.1 การเตรียมน้ำวัตถุดิบ เป็นขั้นตอนที่สำคัญมาก หากเตรียมไม่ถูกต้อง อาจได้ไวน์ที่มีคุณภาพไม่ดี ไม่ได้มาตรฐานหรือมีความบกพร่อง การเตรียมประกอบด้วย

2.1.1.1 คัดเลือกวัตถุดิบ วัตถุดิบต้องมีคุณภาพดี อาจมีตำหนิบ้างแต่ต้องไม่ซ้ำ ปริแตก เน่า มีเชื้อรา มีกลิ่นเปรี้ยว น้ำส้มสายชู

2.1.1.2 ล้าง กำจัดสิ่งสกปรกในวัตถุดิบด้วยน้ำสะอาด

2.1.1.3 กำจัดส่วนที่ไม่ต้องการ ส่วนที่ต้องการนำมาทำเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วบีบหรือคั้นหรือสกัดเอาแต่น้ำ

2.1.1.4 หากจำเป็นต้องเติมน้ำ ต้องเติมในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อรักษากลิ่น สี รส และปริมาณสารอาหาร สำหรับยีสต์ที่มีในน้ำวัตถุดิบ บันทึกปริมาณวัตถุดิบ

2.1.1.5 ใช้ Refractometer วัด °Brix ปรับเป็น 21-22 °Brix ด้วยน้ำตาลทรายหรือน้ำวัตถุดิบเข้มข้น

2.1.2 การยับยั้งและ/หรือการทำลายจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในน้ำวัตถุดิบ บางแห่งไม่ทำขั้นตอนนี้ นิยมให้เกิดการหมักไวน์โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ตามธรรมชาติที่ติดมากับวัตถุดิบ แต่ไวน์ที่ได้มักมีคุณภาพที่ไม่แน่นอน เป็นการเสี่ยงในการลงทุนทางธุรกิจ ในปัจจุบันจึงนิยมยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในวัตถุดิบโดยใช้

2.1.2.1 ความร้อน โดยต้มให้เดือดประมาณ 5 นาที หรือพาสเจอร์ไรซ์ 60-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที แล้วรีบทำให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้อง

2.1.2.2 สารเคมี สารเคมีที่ใช้ต้องไม่สะสมอยู่ในน้ำวัตถุดิบ ต้องสลายตัวง่าย สารเคมีที่นิยมใช้คือซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หรือ SO_2 ซึ่งเป็นแก๊สที่หาซื้อได้ยาก จึงนิยมใช้เกลือซึ่งแตกตัวให้ SO_2 หรือ KMS (Potassium metabisulfite = $K_2S_2O_5$) หรือ SMS (Sodium metabisulfite = $Na_2S_2O_5$) ในของเหลวที่มีพีเอชประมาณ 3.5 เกลือ KMS หรือ SMS จะแตกตัวได้ SO_2 ประมาณครึ่งหนึ่งโดยน้ำหนักของปริมาณเกลือที่เติมลงไป ปกติปริมาณของ KMS หรือ SMS ที่เพียงพอในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำวัตถุดิบคือ 150-200 พีพีเอ็ม หลังจากเติมเกลือนี้แล้วอย่างน้อย 6 ชั่วโมง จึงเติมกล้ำเชื้อยีสต์ลงไปหมัก

2.1.3 การเตรียมกล้ำเชื้อยีสต์และการควบคุมการหมัก ยีสต์ที่ใช้หมักไวน์เป็นเชื้อยีสต์สายพันธุ์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Saccharomyces cerevisiae มีหลายสายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตไวน์ เช่น Montrachet, Burgundy, Champagne, Sherry, Ellipsoideus เป็นต้น อาจใช้ในรูปแบบเชื้อยีสต์สดบนวุ้นเลี้ยงเชื้อหรือเป็นรูปยีสต์ผง (Active dry wine yeast หรือ ADY) ก็ได้ ในการผลิตไวน์ทางอุตสาหกรรมจะนิยมใช้ยีสต์ผงเพราะสะดวก ใช้ง่าย ราคาไม่แพง เก็บไว้ได้นานเป็นปี หมักหมักไวน์ได้คุณภาพดีและสม่ำเสมอ

การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ ถ้าหากเป็นเชื้อยีสต์สด ต้องเพาะเลี้ยงขยายเชื้อในน้ำวัตถุดิบที่แบ่งมาในปริมาณ 1-5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งได้ต้มฆ่าเชื้อปนเปื้อนและทำให้เย็นแล้ว กล้าเชื้อยีสต์ควรมีอายุ 1-2 วันและแข็งขึ้น (active) ถ้าหากเป็นยีสต์ผง ก่อนใช้ต้องทำการ reactive ในน้ำวัตถุดิบ หรือน้ำอุ่นประมาณ 40 องศาเซลเซียสก่อน ปริมาณการใช้และวิธีการใช้จะระบุที่ภาชนะบรรจุยีสต์ผงนั้น

2.1.4 การทำให้ไวน์ใส หลังจากหมักเสร็จควรถ่ายตะกอนทิ้ง (rack) เก็บไวน์ที่อุณหภูมิต่ำ เติมน้ำ KMS หรือ SMS 60-80 พีพีเอ็ม ควรถ่ายตะกอนไวน์ทิ้ง 1-2 ครั้ง ภายใน 2 สัปดาห์ จากนั้นเร่งทำให้ไวน์ใสโดย

2.1.4.1 การปั่นแยกตะกอน (Centrifugation)

2.1.4.2 การเติมสารเพื่อตกตะกอนให้ไวน์ใส (Fining) สารตกตะกอนในไวน์ (Fining agents) ที่ใส่ในไวน์ ได้แก่ Bentonite, Gelatine, Tannins, Chitin หรือ Chitosan, Egg white, Ox blood, Isinglass, Silica solution เป็นต้น

2.1.4.3 การกรอง โดยใช้เครื่องกรองไวน์พร้อมไส้กรอง หรือแผ่นกรองที่มีรูขนาดรูกรองที่เหมาะสม

การทำให้ไวน์ใสเร็วขึ้นอาจใช้วิธีการดังกล่าว 2-3 วิธีช่วยเสริมกัน ไวน์ที่ถูกทำให้ใสในขั้นตอนนี้ไม่ถือว่าเป็นไวน์ที่อยู่ตัว

2.1.5 การเก็บและการบ่มไวน์ ควรเก็บไวน์ใสในขวดหรือถังสแตนเลสที่สะอาด ใส่ไวน์ให้เกือบเต็มขวดหรือถัง มีที่ว่างของอากาศในภาชนะที่เก็บไวน์น้อยที่สุด บางครั้งจำเป็นต้องแทนที่อากาศด้วยแก๊สเฉื่อย (inert gas) เช่น CO₂ และ N₂ แล้วปิดฝาให้มิดชิด ลดอุณหภูมิของไวน์ในถังที่เก็บประมาณ 10-15 องศาเซลเซียส รักษาปริมาณของซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระ 30-40 พีพีเอ็ม จุดประสงค์ของการเก็บไวน์เพื่อพักไวน์เป็นระยะหนึ่งก่อนที่ไวน์จะเข้าสู่ขั้นตอนต่อไป การบ่มไวน์ (Aging) คือการเก็บไวน์ไว้ในภาชนะ หรือแทนที่อากาศด้วยแก๊สเฉื่อย เพื่อป้องกันการสั่นคอป (ออกซิเดชัน) อาจบ่มไวน์ในถังสแตนเลสหรือถังไม้โอ๊กก็ได้

- 2.1.6 การผสมปรุงแต่งไวน์ นำไวน์ตั้งแต่ 2 ชนิดมาผสมในอัตราส่วนต่างๆ อาจเติมน้ำตาล กรด หรือสารเพิ่มความฝาดเผือกก็ได้ การนำไวน์ใส 2-3 ชนิด มาผสมกันอาจให้ไวน์เกิดความขุ่นได้เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของไวน์เปลี่ยนไป จุดประสงค์ของการผสมปรุงแต่งไวน์เพื่อต้องการให้คุณภาพของไวน์ดีขึ้น มีคุณภาพสม่ำเสมอทุกครั้งหรือทุกปีที่ผลิตจำหน่าย
- 2.1.7 การทำให้ไวน์อยู่ตัว เป็นขั้นตอนที่สำคัญขั้นตอนหนึ่งในการผลิตไวน์ ไวน์ที่ไม่อยู่ตัวคือไวน์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านความใสและสีหลังบรรจุขวดและเก็บไว้ระยะหนึ่ง พบว่าไวน์บางขวดเมื่อตั้งในห้องหรือแช่ตู้เย็นระยะหนึ่ง จะเกิดความขุ่นหรือเกิดผลึกสีขาวภายในขวด แสดงว่าไวน์ไม่อยู่ตัว เป็นไวน์ไม่เสถียร ใช้ดื่มได้แต่แสดงว่าผู้ผลิตมีเทคโนโลยีในการผลิตที่ไม่ดีพอ
- 2.1.8 การกรองไวน์ครั้งสุดท้าย เพื่อกำจัดความขุ่นทุกชนิดที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่าเป็นการสร้างความมั่นใจในความใสของไวน์ก่อนทำการบรรจุขวด ทำโดยการกรองด้วยเครื่องกรองแบบ sterile filtration วัสดุกรองหรือแท่งกรองมีขนาด 0.4 microns หรือเล็กกว่าไวน์ที่จะกรองต้องมีความใสมาก
- 2.1.9 การบรรจุ ก่อนที่จะบรรจุไวน์ ต้องมั่นใจว่าไวน์มีคุณภาพดีตามต้องการผ่านการผสมปรุงแต่ง ใสและอยู่ตัว ขวดที่ใช้บรรจุควรเป็นขวดสี อาจเป็นสีเขียวหรือสีชา แห้ง สะอาด ไม้ร้าว ควรบรรจุไวน์เกือบเต็มขวด มีที่ว่างของอากาศในขวดน้อย อาจแทนที่ด้วยอากาศในขวดด้วยแก๊สเฉื่อย

2.2 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการหมักไวน์

มีการผลิตไวน์มาหลายพันปีแล้ว ไวน์ที่ผลิตในสมัยโบราณเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นโดยบังเอิญ โดยผลองุ่นที่ผิวแตกหรือน้ำองุ่นคั้นเกิดการหมักขึ้นเองโดยธรรมชาติ น้ำองุ่นมีกลิ่นรสแอลกอฮอล์และกลิ่นอื่นๆเกิดขึ้น กลิ่นรสของน้ำองุ่นเปลี่ยนไป บางครั้งเป็นกลิ่นรสที่ดีขึ้น เป็นที่ยอมรับ แต่ส่วนใหญ่แล้วน้ำองุ่นจะเกิดการเน่าเสีย ในสมัยนั้นไม่มีใครทราบว่าเป็นเพราะสาเหตุใด

เมื่อประมาณ 130 กว่าปีที่ผ่านมามี หลุยส์ ปาสเตอร์ นักวิทยาศาสตร์ผู้มีชื่อเสียงชาวฝรั่งเศส เป็นคนแรกที่ใช้กล้องจุลทรรศน์ส่องดูหยดน้ำองุ่นที่เกิดการหมักตามธรรมชาติ ได้พบจุลินทรีย์รูปร่างต่างๆที่ก่อให้เกิดการหมักในน้ำองุ่น แต่ หลุยส์ ปาสเตอร์ ไม่ทราบว่าเป็นอะไร แต่กล่าวว่า การที่น้ำองุ่นเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ได้เพราะเกิดการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตบางชนิด ต่อมา นักวิทยาศาสตร์รุ่นหลังได้ทำการแยกจุลินทรีย์ตัวเล็กๆมองด้วยตาเปล่าไม่เห็นเหล่านี้ออกจากน้ำองุ่น ทำให้แต่ละเชื้อบริสุทธิ์ ทำการชันสูตรและจำแนกสายพันธุ์ทางวิชาการในห้องปฏิบัติการ ทำให้ทราบชื่อสายพันธุ์จุลินทรีย์แต่ละชนิด ว่าชนิดใดหมักน้ำองุ่นแล้วได้ไวน์คุณภาพดี ชนิดใดที่ทำให้ไวน์เสีย มีการปรับปรุงสายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้หมักไวน์ให้ดีขึ้นโดยใช้เทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรมศาสตร์ในการตัดต่อพันธุกรรมของยีสต์ การควบคุมการผลิตไวน์ จึงไม่ใช่ความลับหรือความบังเอิญอีกต่อไป คุณภาพของไวน์ที่หมักโดยเติมเชื้อยีสต์บริสุทธิ์ที่คัดเลือกแล้วลงไป ในน้ำองุ่นจะได้ไวน์ที่มีคุณภาพตามต้องการ ไม่ต้องเสี่ยงเหมือนการหมักโดยใช้เชื้อยีสต์ตามธรรมชาติ อุตสาหกรรมผลิตไวน์จึงพัฒนาและก้าวหน้าเป็นลำดับ ไวน์จึงเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งที่สำคัญและนิยมดื่มในเกือบทุกประเทศ

การใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการหมักไวน์ มีวิธีการใช้ 2 วิธีหลัก

1. ใช้จุลินทรีย์ตามธรรมชาติ จุลินทรีย์หลากหลายตามธรรมชาติจะพบที่ผิวของผลไม้ โดยเฉพาะผลไม้ที่สุกจัดหรือแก่จัด มีรสหวาน ผลไม้ที่ผิวแตกหรือช้ำ เมื่อทำการคั้นเอาน้ำผลไม้ ปล่อยให้ทิ้งไว้ น้ำผลไม้จะเกิดการหมักเองโดยจุลินทรีย์ที่ติดมากับผลไม้ จุลินทรีย์ในอากาศและจุลินทรีย์ที่อยู่บนผิวภาชนะหรืออุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการเตรียมน้ำผลไม้หรือภาชนะที่ใช้หมัก ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์เหล่านี้ไม่แน่นอน แตกต่างตามสภาพแวดล้อม อุณหภูมิและความชื้น เป็นต้น ทำให้ได้ไวน์ที่มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ บางครั้งมีคุณภาพยอดเยี่ยมมาก เนื่องจากกลิ่นรสที่ซับซ้อนเกิดจากจุลินทรีย์หลากหลายชนิดตามธรรมชาติช่วยกันหมัก แต่ส่วนใหญ่แล้วไวน์ที่ได้มักมีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ บุคเสี่ยงเป็นการเสี่ยงในการผลิตไวน์ในอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ใช้จุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่คัดเลือกแล้ว จุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในการผลิตไวน์ได้แก่ เชื้อยีสต์ส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* มีหลายสายพันธุ์ ซึ่งจะได้ไวน์ที่มีคุณภาพสม่ำเสมอว่า นิยมผลิตในอุตสาหกรรม

การเปลี่ยนแปลงชนิดของยีสต์ต่างๆในระหว่างที่น้ำองุ่นเกิดการหมักตามธรรมชาติ

เมื่อน้ำองุ่นมาคั้นน้ำและตั้งทิ้งไว้ น้ำองุ่นจะเกิดการหมักเองตามธรรมชาติ *Kloeckera apiculata* เป็นเชื้อยีสต์ชนิดแรกที่พบเมื่อเริ่มการหมัก มันจะเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็ว มีรูปร่างคล้ายกระสวยหรือส้มมีจุก แตกหน่อ (budding) ได้ 2 ข้างสลับกันที่ละข้างที่หัวและท้ายของเซลล์ ให้กลิ่นกระเทียมออเปรี้ยว ยีสต์นี้ไม่ทนต่อแอลกอฮอล์ในไวน์ประมาณ 4-5 ดีกรี ต่อมาจะพบยีสต์ *Candida stellata*, *Candida pulcherima*, *Pichia*, *Kluveromyces* และ *Hansenula anomala* ยีสต์พวก *Candida* และ *Pichia* จะก่อให้เกิดฟิล์มบางๆบนน้ำองุ่นที่เกิดการหมัก เนื่องจากเซลล์ของมันจะต่อกันเป็นโซ่ (chain) หรือตาข่ายที่เรียกว่าเส้นใยเทียม (*Pseudomycelium*) ยังก่อให้เกิดกลิ่นเหม็นเปรี้ยวด้วย ส่วนเชื้อยีสต์ *Hansenula anomala* ซึ่งมีรูปร่างกลมหรือรูกลมรีคล้ายเซลล์ของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* แต่มีขนาดเล็กกว่า มีสปอร์ 4 ใบต่อ 1 เซลล์ สปอร์แต่ละใบมีขอบยื่นออกมาเล็กน้อยรอบเซลล์ ซึ่งเรียกว่า Hat shaped spores มันจะให้กลิ่น ethyl acetate สูง สารเคมีตัวนี้มีเล็กน้อยในไวน์ จะทำให้ไวน์มีกลิ่นหอม แต่ถ้ามีมากเกินไป จะทำให้ไวน์มีความบกพร่องในกลิ่น ยีสต์ทั้ง *Candida*, *Pichia* และ *Hansenula* ไม่ทนต่อแอลกอฮอล์ มันจะถูกยับยั้งและตายไปด้วยแอลกอฮอล์ในไวน์ประมาณ 6-7 ดีกรี ในองุ่นเน่าที่คั้นน้ำแล้วตั้งทิ้งไว้ จะเกิดการหมักครั้งแรกด้วยเชื้อ *Torulopsis stellata* มากกว่าเชื้อยีสต์ *Kloeckera apiculata* แต่จะตายไปอย่างรวดเร็วเพราะไม่ทนต่อแรงแอลกอฮอล์ในไวน์ ต่อมาจะพบเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* หรือ *Saccharomyces ellipsoideus* เจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็ว มีการใช้น้ำตาลในน้ำองุ่นอย่างรวดเร็ว ปริมาณแอลกอฮอล์จึงเพิ่มขึ้นมาก พบว่าจะสูงถึง 12-14 ดีกรี ยีสต์นี้ผลิตและทนต่อปริมาณแอลกอฮอล์ในระดับสูง ให้กลิ่นและรสที่ดีแก่ไวน์ ไวน์จะสิ้นสุดการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์นี้ บางครั้งอาจพบการปนเปื้อนของยีสต์สายพันธุ์หนึ่งในไวน์ที่หมักเสร็จหรือบรรจุขวดเสร็จแล้วคือยีสต์ *Saccharomyces oviformis* เป็นยีสต์ที่ทนต่อแอลกอฮอล์สูง อาจทำให้ไวน์ขุ่นได้ หากไวน์นั้นยังมีปริมาณน้ำตาลเหลืออยู่ ยีสต์นี้ถือเป็นยีสต์ปนเปื้อน (contaminate) ในไวน์

2.3 สารที่ให้กลิ่นรสและสารที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักไวน์

- 2.3.1 กลีเซอรอล (Glycerol) เกิดจากการ reduction ของ dihydroxyacetone phosphate เป็น by-product ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ เป็นสารที่ไม่มีสี มีความหนืดและมีความหวาน สารดังกล่าวเป็นตัวช่วยเพิ่มเรื่องรสชาติของไวน์ให้ดูมีเนื้อ (body) มากขึ้น ทำให้รสชาติไวน์ดูเหมือนมีสารต่างๆบรรจุอยู่ในปริมาณมาก ปริมาณกลีเซอรอลในไวน์สัมพันธ์กับปริมาณแอลกอฮอล์ โดยที่ทุก 100 กรัมของแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักจะเกิดกลีเซอรอล 8 กรัม
- 2.3.2 อะซีตัลดีไฮด์ (Acetaldehyde) สารนี้จะเกิดขึ้นก่อนเกิดกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ โดยที่สารดังกล่าวจะถูกส่งผ่านเข้าเซลล์แล้วเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์ ดังนั้นเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก จะพบว่าสารดังกล่าวจะเหลืออยู่เพียง 7-30 mg/l แต่เคยมีการตรวจพบสารดังกล่าวในปริมาณสูงถึง 180 mg/l ในไวน์ที่ผลิตขึ้น acetaldehyde สามารถทำปฏิกิริยาได้กับ SO₂ ดังนั้น ปริมาณสารดังกล่าวก่อนการหมักควรมีปริมาณน้อยไม่เช่นนั้น SO₂ จะมีปริมาณไม่เพียงพอในการหาเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งอาจป้องกันได้โดยการหมักน้ำผลไม้ให้เร็วขึ้น หรือการใช้ yeast starter ในกระบวนการหมัก
- 2.3.3 เอสเทอร์ (Ester) จะเกิดขึ้นในระหว่างการบ่มไวน์ (aging) แอลกอฮอล์ในไวน์จะค่อยๆรวมตัวกับกรดอินทรีย์ที่มีอยู่เกิดเป็นสารเอสเทอร์ (ester) ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นรสของไวน์ดีขึ้น
- 2.3.4 ไฮเออร์ แอลกอฮอล์ (Higher alcohol) อาจเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า fusel oils เป็นแอลกอฮอล์ที่มี carbon atom 3 หรือมากกว่าขึ้นไป ซึ่งเกิดขึ้นได้ในระหว่างการหมักจากการเจริญของยีสต์และการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนในไวน์ โดยส่วนมากเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลในน้ำหมักถูกเปลี่ยนไปเป็น keto acids แล้วถูก decarboxylated และเกิด reduction จนได้แอลกอฮอล์ การเกิด higher alcohol จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของยีสต์ที่ใช้ในการหมัก รวมถึงสายพันธุ์ขององุ่นที่ใช้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ที่มีความเข้มข้นของกลิ่นรสที่ดี (aromatic varieties) จะเป็นตัวที่ทำให้เกิด higher alcohol สูง และมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสที่ดีตามไปด้วย
- 2.3.5 ไดออลล์ (Diols หรือ Glycols) เป็นสาร aliphatic alcohol มี 2 hydroxyl group มีปริมาณมากในระหว่างการหมักไวน์ มีผลต่อรสชาติของไวน์ diols ที่สำคัญ ได้แก่
- 2.3.5.1 1,3-propanediol จะมีในปริมาณ 600 mg/l ถ้าควบคุมสภาพการหมักที่ไม่ดี มีการสลายของ glycerol มาก ทำให้ค่าดังกล่าวสูงถึง 2.0 g/l จะทำให้กลิ่นรสของไวน์ที่ได้เสีย ที่เรียกว่า putrid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 2.3.5.2 2,3-butanediol เกิดขึ้นในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ เป็น by-product จากการ metabolism ของยีสต์ในระหว่างการหมัก โดยปกติจะมีในปริมาณ 0.3-1.2 g/l ไวน์ที่มีคุณภาพดีจะมีปริมาณของสารชนิดนี้สูง ซึ่งไวน์ชนิดที่ดีเยี่ยมจะมีปริมาณของสารนี้สูงถึง 3 g/l
- 2.3.6 โพลีออลล์ (Polyols) ปกติไวน์ที่จะหมักได้ที่โดยทั่วไปจะพบ erythriol, arabitol, sorbitol และ mannitol ในปริมาณ 40-250 mg/l แต่ในไวน์ที่มีคุณภาพดี จะพบสารเหล่านี้ในปริมาณที่สูงขึ้นอีก
- 2.3.7 กรดอินทรีย์ (Organic acid) ในการหมักผลิตภัณฑ์ไวน์ หลังจากหมักได้ที่แล้ว จะมีกรดอินทรีย์อยู่ในผลิตภัณฑ์จำนวนมากหลายชนิด แต่ละชนิดจะมีปริมาณกรดแตกต่างกันไป ตั้งแต่ปริมาณไม่กี่มิลลิกรัมจนกระทั่งเกือบถึง 10 กรัมต่อลิตร ซึ่งกรดอินทรีย์ที่มีในผลิตภัณฑ์จะมีมาจาก 2 แหล่งด้วยกันคือ
- 2.3.7.1 กรดที่มีอยู่แล้วในผลองุ่นและปนมาอยู่ในน้ำคั้น
- 2.3.7.2 กรดที่ผลิตขึ้นหรือเกิดขึ้นขณะหมักในช่วง alcoholic fermentation และ malolactic fermentation รวมถึงกรดที่ผลิตขึ้นระหว่างมีการปนเปื้อนของเชื้อรา *Botrytis cinerea*

2.4 ดอกไม้ที่นำมาคัดเลือกเชื้อยีสต์

2.4.1 ดอกแก้ว

- ชื่อสามัญ : Orang Jessamine
- ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Murraya paniculata*
- วงศ์ : Rutaceae
- ลักษณะทั่วไป : แก้วเป็นพรรณไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลางสูงประมาณ 5-10 เมตร ทรงพุ่มไม้เป็นระเบียบ ใบออกเป็นช่อ เป็นแผงเรียงสลับกัน ใบเป็นมันสีเขียวเข้ม ขอบใบเรียบเป็นคลื่นเล็กน้อย ออกดอกเป็นช่อใหญ่ ช่อสั้น ออกตามปลายกิ่ง กลิ่นหอม ดอกบานเต็มที่ขนาด 2-3 เซนติเมตร ผลรูปไข่ รี ปลายทู่ มีสีส้ม ภายในมีเมล็ด 1-2 เมล็ด
- การขยายพันธุ์ : เพาะเมล็ด, ตอนกิ่ง
- สภาพที่เหมาะสม: ดินร่วนซุย ดินร่วนปนทราย แสงแดดจัด
- ถิ่นกำเนิด : จีน, ญี่ปุ่น, เกาหลี, อินเดีย และภูมิภาคอินโดจีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 ดอกเข็ม

- ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Ixora chinensis Lamk. Ixora spp.*
- วงศ์ : Rubiaceae
- ลักษณะทั่วไป : เป็นพรรณไม้พุ่มขนาดเล็กถึงขนาดย่อม ลำต้นสูงประมาณ 3-5 ฟุต จะแตกกิ่งก้านสาขาออกแผ่เป็นพุ่ม ใบของดอกเข็มแข็ง และเปราะง่าย มีสีเขียวสด ลักษณะใบมนรี ปลายใบแหลม โคนใบมน ใบจะออกเรียงสลับกันคนละทิศทาง ดอกออกเป็นช่อใหญ่ จะออกตรงส่วนยอดของต้น ในแต่ละช่อจะประกอบด้วยดอกขนาดเล็กเป็นหลอด ตรงปลายหลอดจะเป็นกลีบซึ่งมีอยู่ 4-5 กลีบ ปลายกลีบแหลม
- การขยายพันธุ์ : เป็น ไม้ในเขตร้อน ชอบอยู่กลางแจ้ง ขึ้นได้ดีกับดินทุกชนิดแต่จะชอบดินที่ร่วนซุยมากกว่า มีความชุ่มชื้นพอดี ทนทานต่อความแห้งแล้ง ขยายพันธุ์ด้วยการปักชำกิ่งและเพาะเมล็ด เป็นไม้ที่คนไทยนิยมปลูกตามบ้าน ตามริมรั้ว
- ถิ่นกำเนิด : แถบตะวันออกเฉียงใต้
- อื่นๆ : เข็มจะมีหลายชนิด แต่ละชนิดจะมีขนาดดอกและสีไม่เหมือนกัน

2.4.3 ดอกแคแสด

- ชื่อสามัญ : Africom Tulip Tree
- ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Spathodea campanulata Beauv.*
- วงศ์ : Bignoniaceae
- ลักษณะวิสัย : ไม้ต้น
- ลักษณะ : พืชยืนต้นกิ่งผลัดใบ ทรงพุ่มสูง ความสูงประมาณ 15-20 เมตร ทรงพุ่มแน่นทึบ เปลือกต้นเป็นสีน้ำตาลเข้ม แตกเป็นรวงตามยาว เรือนยอดทรงกลมทึบ ใบเป็นใบผสมแบบขนนก มีใบย่อย 4-7 คู่ ใบย่อยรูปรีปลายใบแหลม ลักษณะใบสากระคายมือ ดอกสีแดงเลือดหมูหรือสีแดงอมส้ม ดอกขนาดใหญ่ กลีบดอกร่วงง่าย ออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง ทะยอยบานครั้งละ 2-6 ดอก กลีบดอกเชื่อมกันเป็นรูปประฆังเบี้ยว แคแสดจะให้ดอกตลอดปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่ดอกจะออกมากที่สุดในช่วงฤดูหนาว ระหว่างเดือนตุลาคม ถึงกุมภาพันธ์ ผลเป็นฝักปลายผลแหลมเมื่อแก่สีน้ำตาลดำ แตกก้านเดี่ยว เมล็ดมีปีก การที่มีดอกทั้งปีดังนั้นแคสแคจึงมีผลแก่อยู่เสมอ แต่จะมีมากในช่วงฤดูฝน ประมาณเดือนกันยายนถึงกันยายน

การกระจายพันธุ์ : แอฟริกาเขตร้อน และในเขตร้อนทั่วไป
ประโยชน์ : เปลือกแก้บิด รักษาแผลโรคผิวหนังและแผลเรื้อรัง เปลือกต้มบำรุงธาตุ ใบใช้พอกแผล ดอกรักษาแผลเรื้อรัง

2.4.4 ดอกแพงพวย

ชื่อสามัญ : Madagascar periwinkle
ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Catharanthus roseus* "G.Don"
วงศ์ : Apocynaceae
ถิ่นกำเนิด : อเมริกากลาง
ลักษณะ : เป็นไม้ล้มลุก เจริญเติบโตได้ดีแตกกิ่งก้านสาขาได้อย่างมากมาย ใบสีเขียวเข้ม ลักษณะกลมรี ขอบใบเรียบ ใบยาวประมาณ 2 นิ้ว และกว้างประมาณ 1 นิ้ว ออกดอกบริเวณยอดของต้น ดอกของแพงพวย จะมีสองสีคือสีแดงและขาว นิยมปลูกประดับไว้ตามสนามหญ้า ข้างทางเดินหรือข้างถนน การปลูกจะปลูกเป็นแถวหรือเป็นกลุ่ม
แสง : ต้องการแสงแดดจัด
น้ำ : ต้องการน้ำพอสมควร อย่าให้น้ำขังและ
ดิน : เจริญเติบโตได้ในดินแทบทุกชนิด
ปุ๋ย : ใส่ปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยหมักปีละ 2 ครั้ง
การขยายพันธุ์ : โดยการเพาะเมล็ด แพงพวยเป็นพืชที่เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว
โรคและแมลง : ไม่ค่อยพบโรคและแมลงรบกวน

2.4.5 ดอกเฟื่องฟ้า

- ชื่อสามัญ : Bougainvillea
- ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Bougainvillea spectabilis willd., Bougainvillea glabra Choisy., Bougainvillea peruviana Humb. Et Bonp.*
- วงศ์ : Nyctaginaceae
- ลักษณะทั่วไป : เป็นพรรณไม้ยืนต้นขนาดกลางประเภทรอเลื้อย เป็นไม้เนื้อแข็ง และมีความเหนียว ลำต้นมีความสูงประมาณ 1-10 เมตร ลำต้นมีเปลือกบางผิวสีเทาหรือน้ำตาล มีหนามคมแหลม ยาวประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร ติดอยู่เป็นระยะๆ ใบเป็นใบเดี่ยวแตกตามเถา ลักษณะรูปไข่ ปลายใบแหลม โคนใบมน ขอบใบเรียบ พื้นใบเรียบมีทั้งสีเขียว และสีด่าง ออกดอกเป็นช่อตามส่วนยอด ช่อละ 1-3 ดอก กลีบดอกหรือใบประดับมี 3 กลีบ มีสีต่างๆ ส่วนดอกมีขนาดเล็กสีขาวเป็นหลอดยาวประมาณ 1-2 เซนติเมตร ผลมีเปลือกแข็งและมีเมล็ดติดกับเปลือก เป็นพืชที่อายุยืนนานหลายสิบปี
- การขยายพันธุ์ : วิธีที่นิยมคือการปักชำ เสียบยอด ตอนกิ่ง โดยวิธีที่ได้ผลดีคือการปักชำและการเสียบยอด

2.4.6 ดอกผักนึ่ง

- ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Pomcea aquatica Forsk*
- วงศ์ : Convolvulaceae
- ลักษณะวิสัย : ไม้ล้มลุก
- ลักษณะ : ไม้เถา เนื้ออ่อน เลื้อยทอดบนผิวน้ำ หรือแผ่ตามดิน เถากลม มียางสีขาว ใบปลายแหลมเป็นโคนรูปหัวใจ หรือตัดตรง ดอกสีขาวหรือสีชมพูอ่อนอมม่วง กลีบโคนโคนเป็นหลอด ปลายใบแผ่ออกเป็นรูปแตร ผลรูปไข่ เมื่อแก่แตกได้
- การขยายพันธุ์ : เอเชียวเขตร้อน
- ประโยชน์ : ยอดอ่อนและใบมีสารจำพวกแคโรทีน ซึ่งเป็น provitamin A บำรุงสายตา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.7 ดอกลิ้นทม

ชื่อวิทยาศาสตร์ :	<i>Plumeria</i>
วงศ์ :	Apocynaceae
ลักษณะทั่วไป :	เป็นไม้ยืนต้น
การขยายพันธุ์ :	เพาะเมล็ดและการปักชำ
ประโยชน์ :	ประดับบ้านและประดับสวน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

การทดลอง

3.1 การเก็บตัวอย่าง

3.1.1 วัดฤทธิและอุปกรณ์

วัดฤทธิ ประกอบด้วย

ดอกเข็มสีเหลือง

ดอกเข็มสีแดง

ดอกแก้ว

ดอกกลิ่นทม

ดอกผักบุ้ง

ดอกเฟื่องฟ้า

ดอกแพงพวย

ดอกแคแสด

อุปกรณ์

ฉุงพลาสติก

ยางรัดฉุงพลาสติก

กรรไกร

ตะเกียงแอลกอฮอล์

หลอดทดลอง

หลอดคักก๊าซ

3.1.2 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

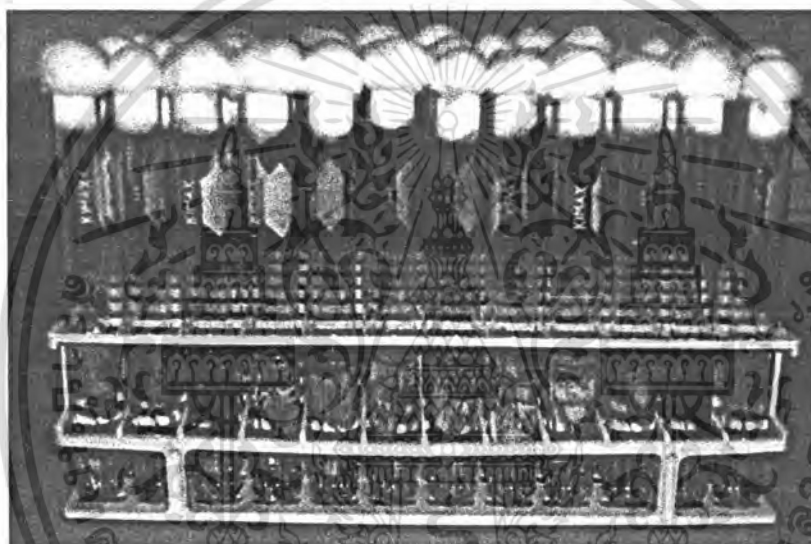
3.1.2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ

Malt extract	5		กรัม
Yeast extract	3		กรัม
Sucrose	200		กรัม
น้ำกลั่น	1		ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

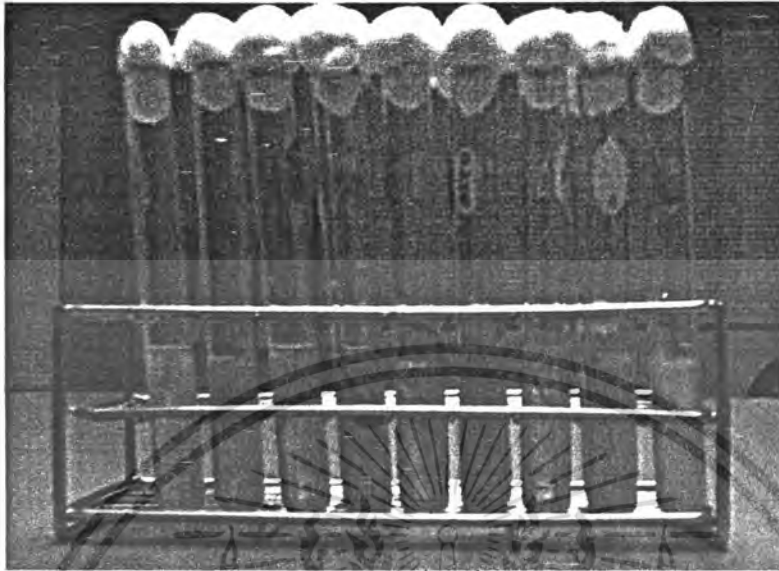
- (ก) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อตามอัตราส่วนข้างต้น นำไปให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อ ละลาย ปิดฝา ใส่หลอดทดลอง 8 มิลลิลิตร ใส่หลอดคักก๊าซ ปิดด้วยจุกสำลี
- (ข) นำไปผ่านการฆ่าเชื้อโดยใช้ autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 PSI เวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น ปรับพีเอชให้ได้ 4.5 ด้วย 1 N HCl
- (ค) ตัดเฉพาะบริเวณกระเปาะน้ำหวานของคอกไม้ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองที่เตรียมไว้



รูปที่ 2. แสดงหมักคอกไม้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย
มอลต์สกัด 5 กรัม, ยีสต์สกัด 3 กรัม และน้ำตาลซูโครส 200 กรัม

- (ง) บ่มที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง
- (จ) เลือกเฉพาะหลอดที่เกิดก๊าซและมีกลิ่นหอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3. แสดงหมักคอกไม้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อหมักได้ 24 ชั่วโมง

3.2 การแยกเชื้อบริสุทธิ์

3.2.1 วัตถุประสงค์และอุปกรณ์

วัตถุประสงค์ ประกอบด้วย

มันฝรั่ง

Dextrose

Agar

น้ำกลั่น

อุปกรณ์

จานเพาะเชื้อ

หลอดทดลอง

ลูปเจ็ยเชื้อ

ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.2.2 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.2.2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (potato dextrose agar)

มันฝรั่ง 200 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

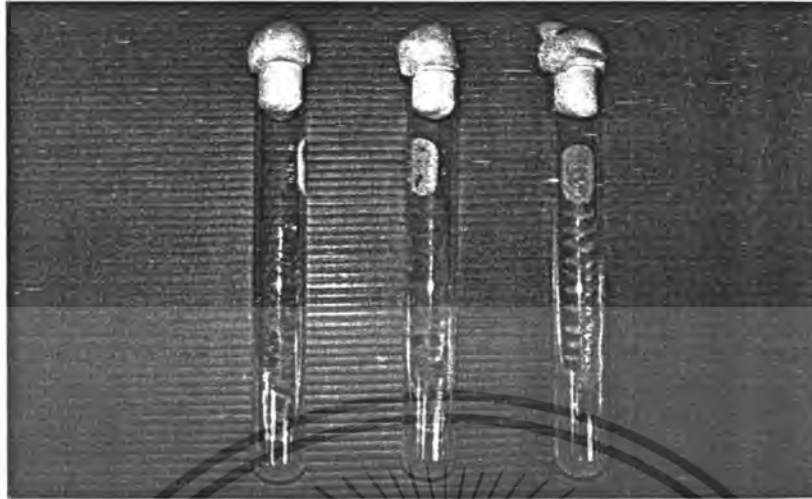
dextrose	20	กรัม
วุ้น (agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

- (ก) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อตามอัตราส่วนข้างต้น ใส่ในขวด 150 มิลลิลิตร และ
ใส่ในหม้อหุงต้มปิดด้วยจุกสำลี แล้วนำไปผ่านการฆ่าเชื้อโดยใช้
autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 PSI เวลา 15 นาที
- (ข) เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ประมาณ 20 มิลลิลิตร ลงในงานเพาะเชื้อ
- (ค) นำหม้อหุงต้มมาเอียงทำเป็น slant
- (ง) เชี่ยเชื้อจากการทดลองที่ 3.1.2.1(จ) streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ใน plate
บ่มที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง



รูปที่ 4. เชี่ยเชื้อจากหม้อหุงต้ม streak บนอาหาร PDA

- (จ) เลือกเฉพาะ โคลนเดี่ยวๆ streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ใน slant



S.cerevisiae ยีสต์จากคอกแก้ว ยีสต์จากคอกเข็ม

รูปที่ 5. เชื้อยีสต์โคโลนีเดี่ยวที่แยกได้ใน slant ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

3.3 การเตรียม starter เพื่อใช้ในการหมักไวน์สับประรด

3.3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์

วัตถุดิบและสารเคมี ประกอบด้วย

สับประรดศรีราชา

น้ำตาลทราย

Di-Ammonium Hydrogen Phosphate

อุปกรณ์

เครื่องวัดปริมาณน้ำตาล (Hand-Refractometer)

เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง

เครื่องวัดพีเอช (pH)

อุปกรณ์เครื่องครัว

เครื่อง autoclave

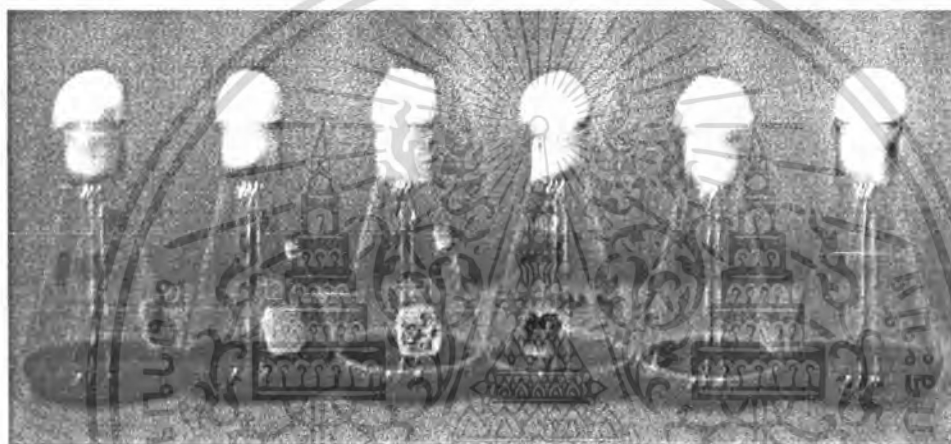
3.3.2 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.2.1 ปอกสับประรดศรีราชา หั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ

3.3.2.2 กรองเอาเฉพาะน้ำด้วยผ้าขาวบาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.2.3 ปรับความหวานด้วยน้ำตาลทรายจนมีความหวาน 18 องศาบริกซ์ ใช้ปริมาตร 5% ของน้ำสับประรดที่ใช้หมักไวน์ ปรับพีเอชให้อยู่ในช่วง 3.5-4.5 เติม Di-Ammonium Hydrogen Phosphate 0.2 กรัม/ลิตร
- 3.3.2.4 ینگฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ทิ้งให้เย็น
- 3.3.2.5 ใส่เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* และเชื้อยีสต์ที่แยกได้
- 3.3.2.6 บ่มที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง



S.cerevisiae ยีสต์จากคอกแก้ว ยีสต์จากคอกเข็ม *S.cerevisiae* ยีสต์จากคอกแก้ว ยีสต์จากคอกเข็ม
รูปที่ 6. starter เตรียมจากน้ำสับประรดที่ปรับ °Brix ,pH, เติม DAP แล้ว autoclave
แต่ละฟลasks มีปริมาตร 5% ของน้ำสับประรดที่ใช้หมักไวน์
หมักที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมง

3.4 การเตรียมน้ำสับประรดเพื่อใช้ในการหมักไวน์สับประรด

3.3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์

วัตถุดิบและสารเคมี ประกอบด้วย

สับประรดศรีราชา

น้ำตาลทราย

Di-Ammonium Hydrogen Phosphate

Potassium metabisulfite

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์

เครื่องวัดปริมาณน้ำตาล (Hand-Refractometer)

เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง

เครื่องวัดพีเอช (pH)

อุปกรณ์เครื่องครัว

3.3.2 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.2.7 ปอกสับประดศรีราชา หั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ

3.3.2.8 กรองเอาเฉพาะน้ำด้วยผ้าขาวบาง

3.3.2.9 ปรับความหวานด้วยน้ำตาลทรายจนมีความหวาน 22 องศาบริกซ์ ปรับพีเอชให้อยู่ในช่วง 3.5-4.5 เติม Di-Ammonium Hydrogen Phosphate 0.2 กรัม/ลิตร และเติม Potassium metabisulfite 200-500 ppm

3.3.2.10 ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

3.5 การทดลองการหมักไวน์โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* และเชื้อยีสต์ที่แยกได้

3.5.1 ถ่าย starter ที่เตรียมไว้ลงในน้ำสับประดศรีที่เตรียมไว้ หมัก 7 สูตร

สูตร 1 ถ่ายเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* 5%

สูตร 2 ถ่ายเชื้อยีสต์จากดอกแก้ว 5%

สูตร 3 ถ่ายเชื้อยีสต์จากดอกเข็มสีเหลือง 5%

สูตร 4 ถ่ายเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* 2.5% และ ยีสต์จากดอกแก้ว 2.5%

สูตร 5 ถ่ายเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* 2.5% และ ยีสต์จากดอกเข็มสี เหลือง 2.5%

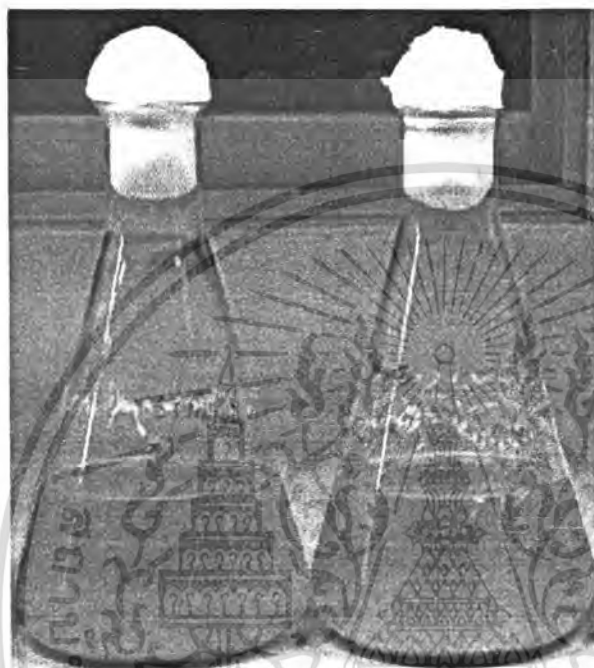
สูตร 6 ถ่ายเชื้อ ยีสต์จากดอกแก้ว 2.5% ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงแล้วถ่ายเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* 2.5%

สูตร 7 ถ่ายเชื้อ ยีสต์จากดอกเข็มสีเหลือง 2.5% ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงแล้วถ่ายเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* 2.5%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2 หมักไว้ 6 วัน

3.5.3 เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์สุดท้าย โดยในช่วงการหมักจะมีการเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาและทางเคมี



รูปที่ 7. ไวน์สับประคหมักที่อุณหภูมิห้องได้ 6 วัน

3.6 การเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างเพื่อใช้ในการตรวจหาปริมาณเชื้อยีสต์ การตรวจวัดค่า pH, °Brix, ปริมาณแอลกอฮอล์ จะทำการเก็บตัวอย่างด้วยวิธี Aseptic Technique ทุกๆ 24 ชั่วโมง ตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 6 โดยในการเก็บตัวอย่างในแต่ละครั้งจะทำการเก็บเป็นจำนวน 50 มิลลิลิตร

การเก็บตัวอย่างเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์ Acetaldehyde จะทำการเก็บตัวอย่างด้วยวิธี Aseptic technique ผลิตภัณฑ์สุดท้ายในวันที่ 6 โดยในการเก็บตัวอย่างในแต่ละสูตรจะทำการเก็บเป็นจำนวน 50 มิลลิลิตร

3.7 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.7.1 การตรวจวัดค่าปริมาณแอลกอฮอล์โดยวิธี Dichromate oxidation

3.7.2 การวัดค่าพีเอชโดยใช้ pH-meter

3.7.3 การวัดค่า °Brix โดยใช้ Hand-Refractometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

3.7.4 การหาปริมาณ Acetaldehyde โดยใช้วิธีการไตเตรตด้วย 0.05 N I solution โดยมีน้ำแป้ง 0.2% เป็น indicator

3.7.5 การวัดปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) โดยวิธี Dichromate oxidation

3.8 การศึกษาประสิทธิภาพของวัตถุดิบเสียในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYB ที่มีเชื้อยีสต์ต่างกัน

3.8.1 เตรียม slant ของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* var. montrachet , *Saccharomyces*

cerevisiae var. champagne, *Saccharomyces cerevisiae* var. sherry, ยีสต์จากดอกแก้ว และยีสต์

จากดอกเข็ม

3.8.2 ใช้ลวดเขี่ยเชื้อถ่ายเชื้อจาก slant ลงในอาหาร GYB ที่เติมสารกันเสียทั้ง 2 ชนิด ทุกหลอด

3.8.3 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง

3.8.4 ตรวจสอบผลการเจริญเมื่อบ่มเชื้อครบ 7 วัน

3.8.5 บันทึกผลการเจริญมากที่สุด โดยบันทึกผลเป็น ++++ สำหรับหลอดที่มีการเจริญมากที่สุด และ +++, ++, + และ - หมายถึงการเจริญที่ลดน้อยลงเป็นลำดับจนถึงไม่มีการเจริญ

3.9 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

โดยมีตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบคือ

สูตร 1 ถ่ายเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. montrachet 5%

สูตร 2 ถ่ายเชื้อยีสต์จากดอกแก้ว 5%

สูตร 3 ถ่ายเชื้อยีสต์จากดอกเข็มสีเหลือง 5%

สูตร 4 ถ่ายเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. montrachet 2.5% และ ยีสต์จากดอกแก้ว 2.5%

สูตร 5 ถ่ายเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. montrachet 2.5% และ ยีสต์จากดอกเข็มสี เหลือง 2.5%

สูตร 6 ถ่ายเชื้อ ยีสต์จากดอกแก้ว 2.5% ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงแล้วถ่ายเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. montrachet 2.5%

สูตร 7 ถ้ายเชื้อ ยีสต์จากคอกเฒ่าสีเหลือง 2.5% ที่งัไว้ 24 ชั่วโมงแล้วถ้ายเชื้อ

Saccharomyces cerevisiae var. *montrachet* 2.5%

ปัจจัยที่ทำการทดสอบ คือ

(ก) ลักษณะปรากฏ

(ข) กลิ่น

(ค) รสชาติ

(ง) การยอมรับโดยรวม

โดยใช้โปรแกรม SPSS ซึ่งใช้แผนการทดลองแบบ CRD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ในการหาความแตกต่างของการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

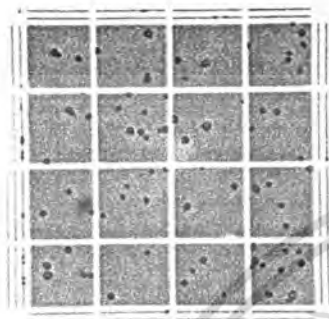


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

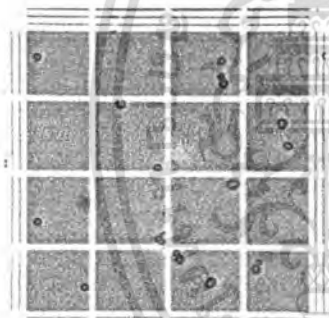
บทที่ 4

ผลการทดลอง

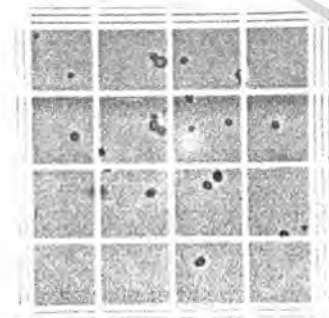
4.1 ลักษณะพื้นฐานของยีสต์



รูปที่ 8. *Saccharomyces cerevisiae* var. montrachet
กำลังขยาย 400 เท่า อายุ 48 ชั่วโมง เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA



รูปที่ 9. ยีสต์จากดอกแก้ว
กำลังขยาย 400 เท่า อายุ 48 ชั่วโมง เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA



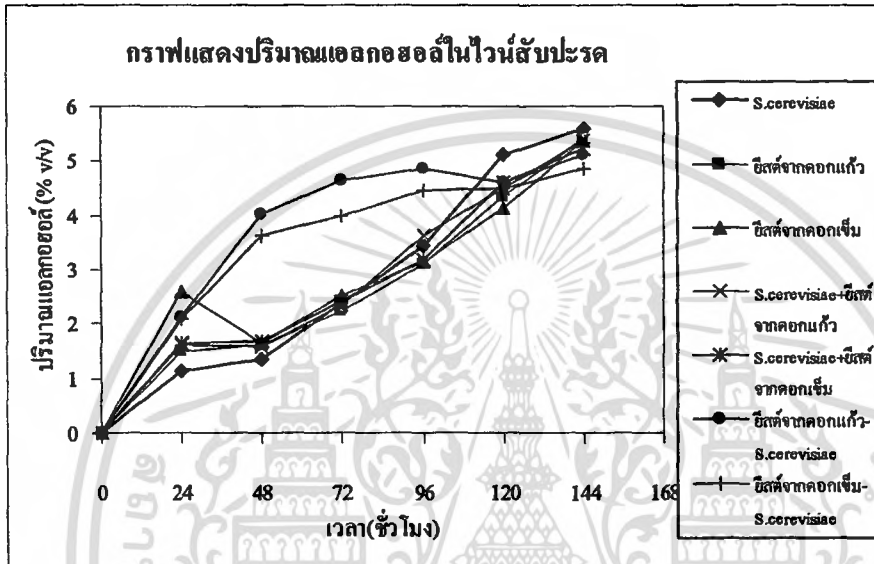
รูปที่ 10. ยีสต์จากดอกเข็ม
กำลังขยาย 400 เท่า อายุ 48 ชั่วโมง เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การตรวจวิเคราะห์ค่า ปริมาณแอลกอฮอล์, pH, °Brix และ ปริมาณเชื้อยีสต์ที่มีชีวิตที่นับได้

จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีต่างๆเราจะได้ค่า ปริมาณแอลกอฮอล์, pH, °Brix และ ปริมาณเชื้อยีสต์ที่มีชีวิตที่นับได้ ของไวน์สูตรต่างๆเมื่อนำมาเขียนกราฟเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของค่าต่างๆภายในแต่ละถังหมัก

4.2.1 ปริมาณแอลกอฮอล์



รูปที่ 11. กราฟแสดงปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์สับประรด ณ เวลาต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	Sig.
0	-
24	0.041
48	0.000
72	0.013
96	0.000
120	0.000
144	0.000

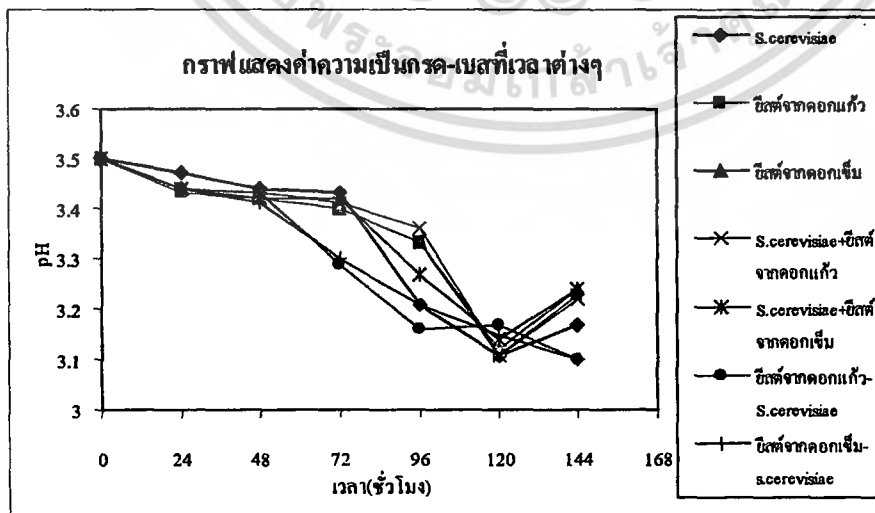
ตารางที่ 1. แสดงค่านัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของปริมาณแอลกอฮอล์ ค่าพีเอชที่มีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ	เวลา (ชั่วโมง)						
	0	24	48	72	96	120	144
<i>S.cerevisiae</i>	0.00 ^b	1.12 ^d	1.36 ^f	2.38 ^b	3.45 ^d	5.11 ^a	5.61 ^a
ยีสต์จากคอกแก้ว	0.00 ^f	1.50 ^{cd}	1.61 ^d	2.23 ^b	3.11 ^f	4.35 ^d	5.40 ^b
ยีสต์จากคอกเข้มน	0.00 ^e	2.60 ^b	1.63 ^d	2.51 ^b	3.15 ^e	4.13 ^o	5.36 ^{bc}
<i>S.cerevisiae</i> +ยีสต์จากคอกแก้ว	0.00 ^d	1.62 ^{cd}	1.57 ^e	2.34 ^b	3.62 ^b	4.51 ^c	5.38 ^b
<i>S.cerevisiae</i> +ยีสต์จากคอกเข้มน	0.00 ^c	1.63 ^{cd}	1.68 ^c	2.43 ^b	3.17 ^o	4.61 ^b	5.23 ^{cd}
ยีสต์จากคอกแก้ว- <i>S.cerevisiae</i>	0.00 ^b	2.11 ^{bc}	4.01 ^a	4.64 ^a	4.86 ^a	4.61 ^b	5.11 ^d
ยีสต์จากคอกเข้มน- <i>S.cerevisiae</i>	0.00 ^a	1.60 ^{ab}	3.36 ^b	4.00 ^a	4.46 ^b	4.51 ^c	4.86 ^c

ตารางที่ 2. แสดงค่าความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของปริมาณแอลกอฮอล์

4.2.2 PH



รูปที่ 12. กราฟแสดงค่าความเป็นกรด-เบสในไวน์สับประค ณ เวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลา (ชั่วโมง)	Sig.
0	1.000
24	0.725
48	0.516
72	0.730
96	0.001
120	0.094
144	0.334

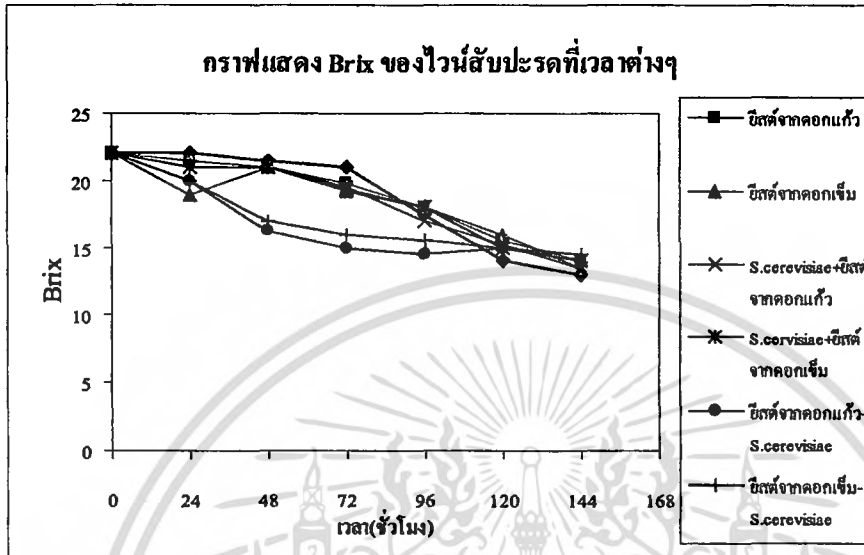
ตารางที่ 3. แสดงค่านัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของค่าความเป็นกรด-เบส ค่าพีเอชไม่มีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ยกเว้นวันที่ 4 มีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เชื้อ	เวลา (ชั่วโมง)						
	0	24	48	72	96	120	144
<i>S.cerevisiae</i>	3.50 ^a	3.455 ^a	3.44 ^a	3.43 ^a	3.21 ^{cd}	3.115 ^b	3.17 ^a
ยีสต์จากดอกแก้ว	3.50 ^a	3.43 ^a	3.42 ^a	3.45 ^a	3.33 ^{ab}	3.115 ^b	3.245 ^a
ยีสต์จากดอกเข็ม	3.50 ^a	3.44 ^a	3.42 ^a	3.45 ^a	3.33 ^{ab}	3.125 ^{ab}	3.24 ^a
<i>S.cerevisiae</i> + ยีสต์จากดอกแก้ว	3.50 ^a	3.44 ^a	3.43 ^a	3.41 ^a	3.36 ^a	3.115 ^b	3.22 ^a
<i>S.cerevisiae</i> + ยีสต์จากดอกเข็ม	3.50 ^a	3.44 ^a	3.42 ^a	3.42 ^a	3.27 ^{bc}	3.145 ^{ab}	3.24 ^a
ยีสต์จากดอกแก้ว- <i>S.cerevisiae</i>	3.50 ^a	3.44 ^a	3.43 ^a	3.29 ^a	3.185 ^d	3.175 ^a	3.10 ^a
ยีสต์จากดอกเข็ม- <i>S.cerevisiae</i>	3.50 ^a	3.44 ^a	3.41 ^a	3.30 ^a	3.18 ^d	3.16 ^{ab}	3.10 ^a

ตารางที่ 4. แสดงค่าความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของค่าความเป็นกรด-เบส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 °Brix



รูปที่ 13. กราฟแสดงค่า °Brix ในไวน์สับปะรด ณ เวลาต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	Sig.
0	1.000
24	0.087
48	0.011
72	0.003
96	0.068
120	0.319
144	0.851

ตารางที่ 5. แสดงค่านัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของค่า °Brix

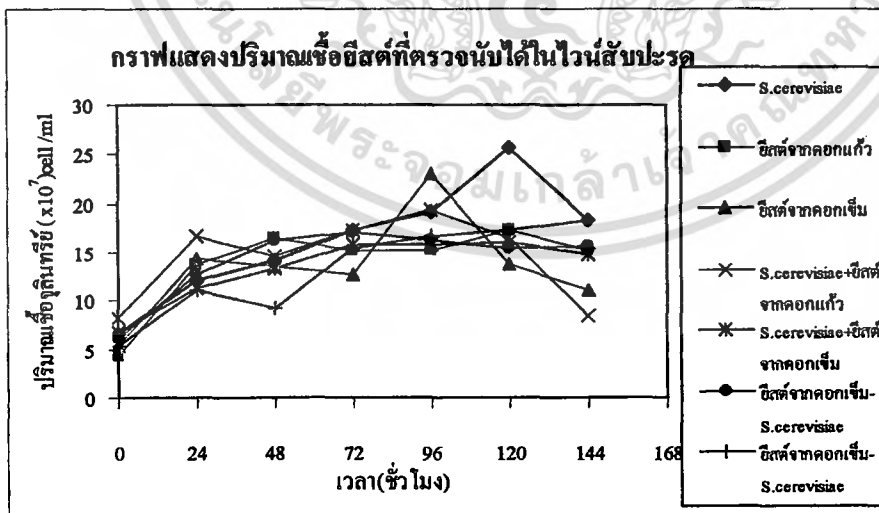
ค่า °Brix ในวันที่ 2 และ 3 มีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ส่วนในวันที่ 0,1,4,5 และ 6 ไม่มีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ	เวลา (ชั่วโมง)						
	0	24	48	72	96	120	144
S.cerevisiae	22 ^a	22 ^b	21.5 ^b	21.0 ^b	17.5 ^b	14.5 ^a	13 ^a
ยีสต์จากดอกแก้ว	22 ^a	21.5 ^{ab}	21 ^b	19.8 ^b	18.0 ^b	15.5 ^a	14.5 ^a
ยีสต์จากดอกเข็ม	22 ^a	19 ^a	21 ^b	19.2 ^b	18.0 ^b	16 ^a	13.5 ^a
S.cerevisiae+ ยีสต์จากดอกแก้ว	22 ^a	21 ^{ab}	21 ^b	19.6 ^b	17 ^{ab}	15.15 ^a	13.5 ^a
S.cerevisiae+ ยีสต์จากดอกเข็ม	22 ^a	21 ^{ab}	21 ^b	19.4 ^b	18 ^b	14 ^a	14 ^a
ยีสต์จากดอกแก้ว- S.cerevisiae	22 ^a	19 ^a	16.2 ^a	15 ^a	14.5 ^a	14 ^a	14 ^a
ยีสต์จากดอกเข็ม- S.cerevisiae	22 ^a	19 ^a	17.0 ^a	16 ^a	15.5 ^{ab}	14 ^a	14.5 ^a

ตารางที่ 6. แสดงค่าความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของค่า°Brix

4.2.4 ปริมาณเชื้อยีสต์ที่นับได้



รูปที่ 14. กราฟแสดงปริมาณเชื้อยีสต์ที่ตรวจนับได้ในไวน์สับปะรด ณ เวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลา (ชั่วโมง)	Sig.
0	0.000
24	0.000
48	0.000
72	0.000
96	0.000
120	0.000
144	0.000

ตารางที่ 7. แสดงค่านัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของปริมาณเชื้อยีสต์ที่ตรวจนับได้ ปริมาณเชื้อยีสต์ที่ตรวจนับได้มีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เชื้อ	เวลา (ชั่วโมง)						
	0	24	48	72	96	120	144
<i>S.cerevisiae</i>	6.62 ^b	12.22 ^c	14.23 ^d	17.35 ^b	19.11 ^c	25.7 ^a	18.36 ^a
ยีสต์จากดอกแก้ว	4.25 ^e	13.78 ^c	16.44 ^a	15.30 ^c	15.30 ^b	17.33 ^b	15.11 ^d
ยีสต์จากดอกเข็ม	5.26 ^d	14.44 ^b	13.56 ^e	12.68 ^d	23.11 ^a	17.78 ^b	11.11 ^f
<i>S.cerevisiae</i> + ยีสต์จากดอกแก้ว	8.30 ^a	16.68 ^a	14.56 ^c	17.24 ^a	19.33 ^b	14.44 ^c	8.44 ^b
<i>S.cerevisiae</i> + ยีสต์จากดอกเข็ม	6.8 ^b	11.335 ^f	13.33 ^f	17.76 ^a	15.88 ^f	15.96 ^c	14.88 ^c
ยีสต์จากดอกแก้ว- <i>S.cerevisiae</i>	6.21 ^c	12.68 ^d	16.235 ^b	12.12 ^e	16.24 ^c	15.36 ^d	15.56 ^c
ยีสต์จากดอกเข็ม- <i>S.cerevisiae</i>	5.35 ^d	11.11 ^a	9.33 ^e	15.45 ^b	16.68 ^d	17.33 ^b	18.22 ^b

ตารางที่ 8. แสดงค่าความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของปริมาณเชื้อยีสต์ที่ตรวจนับ

ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาประสิทธิภาพของการทนต่อวัตถุกัมมิ์ของเชื้อยีสต์

4.3.1 การศึกษาประสิทธิภาพของการทนต่อ Potassium sorbate เชื้อยีสต์

เชื้อ	ความเข้มข้นของ Potassium sorbate (ppm)													
	0		200		400		600		800		1000		2000	
	จุ่น	ก๊าซ	จุ่น	ก๊าซ	จุ่น	ก๊าซ	จุ่น	ก๊าซ	จุ่น	ก๊าซ	จุ่น	ก๊าซ	จุ่น	ก๊าซ
Champagne	+++	+++ +	+++	+++	++	+	++	+	++	+	++	+	-	-
Motrasae	++	+++ +	++	+++ +	+	+++	++	+++	++	+	+	+	-	+
Cherry	++	+++ +	++	+++ +	++	+++	++	+++	++	+	+	+	-	-
ยีสต์จากดอกแก้ว	+++	+++ +	++	+++ +	++	+	+	+	+	+	+	+	-	-
ยีสต์จากดอกเข็ม	++	+++ +	++	+++ +	++	+	+	+	+	+	+	+	-	+

ตารางที่ 9. แสดงประสิทธิภาพของการทนต่อ Potassium sorbate เชื้อยีสต์

4.3.2 การศึกษาประสิทธิภาพของการทนต่อ Potassium metabisulfite เชื้อยีสต์

เชื้อ	ความเข้มข้นของ potassium metabisulfite (ppm)													
	0		200		400		600		800		1000		2000	
	จุ่น	ก๊าซ	จุ่น	ก๊าซ	จุ่น	ก๊าซ	จุ่น	ก๊าซ	จุ่น	ก๊าซ	จุ่น	ก๊าซ	จุ่น	ก๊าซ
Champagne	+++	+++ +	++	+++ +	++	+++	++	+	++	+	-	-	-	-
Motrachet	++	+++ +	++	+++ +	++	+++	++	+++	++	+++	-	-	-	-
Cherry	++	+++ +	++	+++ +	++	+++	++	+++	++	+++	-	-	-	-
ยีสต์จากดอกแก้ว	++	+++ +	++	+++ +	++	+++	++	+++	-	-	-	-	-	-
ยีสต์จากดอกเข็ม	++	+++ +	++	+++ +	++	+++	++	+++	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 10. แสดงประสิทธิภาพของการทนต่อ Potassium metabisulfite เชื้อยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจากดอกเห็บและเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* สามารถทนต่อ Potassium sorbate ได้มากถึง 2000 ppm และเชื้อยีสต์สายพันธุ์อื่นทนได้ 1000 ppm

เชื้อ *S.cerevisiae* สายพันธุ์ *montrachet*, Champagne และ Cherry สามารถทนต่อ Potassium metabisulfite ได้ 800 ppm และเชื้อยีสต์จากดอกแก้วและยีสต์จากดอกเห็บทนได้ 600 ppm

4.4 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

จากข้อมูลที่ได้จะนำมาคำนวณทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS ซึ่งจะใช้แผนการทดลองแบบ CRD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และสรุปผลออกมาดังตารางที่ 11 และตารางที่ 12

ลักษณะของไวน์	Sig.
ลักษณะภายนอก	0.000
กลิ่น	0.000
รสชาติ	0.000
คุณภาพโดยรวม	0.000

ตารางที่ 11. แสดงค่านัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% การทดสอบทางประสาทสัมผัส การทดสอบทางประสาทสัมผัสมีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ลักษณะของไวน์				
เชื้อ	ลักษณะปรากฏ	กลิ่น	รสชาติ	คุณภาพโดยรวม
S.cerevisiae	5.24 ^b	4.92 ^a	5.2 ^a	5.28 ^a
ยีสต์จากดอกแก้ว	2.76 ^c	2.60 ^d	2.00 ^d	1.96 ^d
ยีสต์จากดอกเข็ม	5.56 ^a	4.80 ^a	5.20 ^a	5.20 ^a
S.cerevisiae+ยีสต์จากดอกแก้ว	2.96 ^c	3.16 ^{bc}	2.36 ^d	2.36 ^d
S.cerevisiae+ยีสต์จากดอกเข็ม	3.76 ^b	3.44 ^{bc}	3.20 ^c	3.16 ^c
ยีสต์จากดอกแก้ว-S.cerevisiae	4.20 ^b	3.84 ^{bc}	3.64 ^{ab}	3.64 ^{ab}
ยีสต์จากดอกเข็ม-S.cerevisiae	4.48 ^b	4.12 ^b	4.16 ^b	4.28 ^b

ตารางที่ 12. แสดงค่าการยอมรับและความแตกต่างของแต่ละปัจจัยในแต่ละตัวอย่าง

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคทั้งหมด 25 คน ในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ และการยอมรับโดยรวม แล้วนำมาคำนวณทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS ซึ่งใช้แผนการทดลองแบบ CRD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ได้ผลการทดลองดังตาราง ซึ่งจากตารางสรุปได้ว่าผู้บริโภคให้การยอมรับทางด้านลักษณะปรากฏของไวน์ที่หมักจากเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากดอกเข็มมากที่สุด ส่วนการยอมรับโดยรวมพบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับโดยรวมที่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยยอมรับไวน์ที่หมักจากเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* รองลงมาคือไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกเข็ม, ไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกเข็มแล้วตามด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* , ไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกแก้วแล้วตามด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* , ไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกแก้ว+ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* ,ไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกแก้ว+ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* และไวน์ที่หมักจากเชื้อยีสต์จากดอกแก้ว

4.5 การวิเคราะห์ค่า Acetaldehyde

ไวน์ที่หมักจากเชื้อ	Acetaldehyde(mg/l)
S.cerevisiae	77
ยีสต์จากดอกแก้ว	55
ยีสต์จากดอกเข็ม	99
S.cerevisiae+ยีสต์จากดอกแก้ว	95
S.cerevisiae+ยีสต์จากดอกเข็ม	97
ยีสต์จากดอกแก้ว S.cerevisiae	55
ยีสต์จากดอกเข็ม S.cerevisiae	66

ตารางที่ 13. แสดงการเปรียบเทียบค่า Acetaldehyde ของไวน์ที่หมักจากเชื้อ S.cerevisiae และเชื้อยีสต์ที่แยกได้

จากการหาค่า Acetaldehyde จะเห็นได้ว่าค่า Acetaldehyde ของไวน์ทั้ง 7 สูตร จะอยู่ในช่วงเดียวกับไวน์ผลไม้ทั่วไป

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองคัดแยกเชื้อยีสต์ในดอกไม้ จะได้ยีสต์จากดอกแก้วและดอกเข็มเมื่อนำมาหมักไวน์เปรียบเทียบกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* โดยทำการหมัก 6 วัน เมื่อทำการเปรียบเทียบกันระหว่างแอลกอฮอล์ของไวน์ทั้ง 7 สูตร จะเห็นได้ว่าไวน์ที่หมักจากเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* ผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงที่สุด รองลงมาคือไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกแก้วและไวน์ที่ผลิตแอลกอฮอล์ได้น้อยที่สุดคือไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกเข็มแล้วตามด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet*

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคทั้งหมด 25 คน ในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ และการยอมรับโดยรวม แล้วนำมาคำนวณทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS ซึ่งใช้แผนการทดลองแบบ CRD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สรุปได้ว่าผู้บริโภคให้การยอมรับทางด้านลักษณะปรากฏของไวน์ที่หมักจากเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากดอกเข็มมากที่สุด ส่วนการยอมรับโดยรวมพบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับโดยรวมที่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยยอมรับไวน์ที่หมักจากเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* รองลงมาคือไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกเข็ม, ไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกแก้วแล้วตามด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet*, ไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกเข็ม+ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet*, ไวน์ที่หมักจากยีสต์จากดอกแก้ว+ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet* และไวน์ที่หมักจากเชื้อยีสต์จากดอกแก้ว

สรุปว่าการหมักไวน์โดยใช้เชื้อยีสต์ที่ให้กลิ่นรสที่แยกจากธรรมชาติสามารถหมักไวน์ได้ แต่คุณภาพโดยรวมของไวน์ยังไม่ดีเท่าไวน์ที่หมักจากเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet*

การศึกษาประสิทธิภาพของการทนต่อวัตถุดิบเสียของเชื้อยีสต์ทำให้ทราบว่าเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากดอกไม้มีความสามารถในการทนต่อวัตถุดิบเสียได้น้อยกว่าเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* var. *montrachet*

แต่ในการหมักไวน์จะใช้ Potassium metabisulfite 200-500 ppm ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยีสต์ที่แยกได้จากดอกไม้สามารถเจริญได้

จากการหาค่า Acetaldehyde จะเห็นได้ว่าค่า Acetaldehyde ของไวน์ทั้ง 7 สูตร จะอยู่ในช่วงเดียวกับไวน์ผลไม้ทั่วไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

การแยกเชื้อที่ให้กลิ่นรสจากดอกไม้ เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะใช้ในการปรับปรุงและพัฒนาคุณภาพของไวน์ให้มีคุณภาพดียิ่งขึ้นต่อไป ซึ่งต่อไปในอนาคตหากมีการศึกษาชนิดของดอกไม้และวิธีการแยกเชื้อให้มากกว่านี้ อาจจะมีเชื้อที่ใช้ในการหมักไวน์เพิ่มขึ้นอีกก็ได้

เนื่องจากเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากดอกไม้ตายง่ายจึงต้องทำการถ่ายเชื้อทุกๆ 7 วัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ประดิษฐ์ ทรัพย์วัฒนา ไวน์: ศาสตร์และศิลป์ สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2545

50 ถนนพหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

คุณฉวี ธนบุรีพัฒน์ จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ.2537

อรพิน ภูมิภมร จุลินทรีย์ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์และอาหารหมักพื้นเมือง ภาควิชาเทคโนโลยีชีว

ภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประพันธ์ ปิ่นศิริโรตม คู่มือปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์หมัก สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระ

บัง

นิตยา พิระภัทรรุ่งสุริยา, อติสร เสวตวิวัฒน์ และ บุญเทียม พันธุ์เพ็ง ปฏิบัติการจุลชีววิทยา

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระ

บัง

อติสร เสวตวิวัฒน์ เอกสารประกอบการเรียนวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระ

บัง

Anthony H. rose , J.stuart harrison The yeast ,Academic press Harcourt Brace&Company,

Publishers

A.O.A.C. Official Method of Analysis (1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์

Malt extract	5	กรัม
Yeast extract	3	กรัม
Sucrose	200	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

2. สูตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (potato dextrose agar)

มันฝรั่ง	200	กรัม
dextrose	20	กรัม
วุ้น (agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี

1. การตรวจวิเคราะห์ค่าปริมาณแอลกอฮอล์โดยวิธี Dichromate oxidation

1.1 การเตรียมสารละลาย

1.1.1 สารละลาย potassium dichromate

เติมกรด H_2SO_4 325 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอยู่ในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร อย่างช้าๆ คนเบาๆ ทำให้เย็นลงโดย แช่บีกเกอร์ในอ่างน้ำเย็น จากนั้นเติม $K_2Cr_2O_7$ 33.7680 กรัม (primary standard) คนให้ละลายถ่ายใส่ขวด วัดปริมาตร ขนาด 1 ลิตร ค่อยๆ เติมน้ำกลั่นลงไปจนเกือบถึงขีด ทำให้เย็นโดยแช่ ขวดปริมาตร ในอ่างน้ำเย็น จากนั้น ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำกลั่น

1.1.2. สารละลาย ammonium ferrous sulfate

ละลาย $(Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O)$ 135.5 กรัม ในน้ำ 500 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร เติมกรด H_2SO_4 30 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร

ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำกลั่น

1.1.3 สารละลาย 1,10 - phenanthroline

ละลาย $(FeSO_4 \cdot 7H_2O)$ 0.695 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติม O-Phenanthroline $\cdot 1 H_2O$ 1.485 กรัม คนให้ละลายปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

1.2 วิธีวิเคราะห์

1.2.1 การกลั่นตัวอย่างโดยใช้ micro kjeldahl apparatus

ต้มน้ำใน steam generator ให้เดือดเปิดน้ำเย็นไหลผ่าน condenser ปิดเตา สารละลาย $K_2Cr_2O_7$ 25 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่แล้วนำไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้จากปลาย condenser โดยให้ปลาย condenser จุ่มอยู่ในสารละลาย $K_2Cr_2O_7$

เปิดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เช็ดตัวอย่างที่เป็นอนอยู่ด้านนอกปิเปตให้แห้ง ถ่ายตัวอย่างลงในหลอดกลั่นตัวอย่าง ใช้กระบอกน้ำกลั่นฉีดล้างด้านใน ของปิเปตให้ไหลลงในหลอดกลั่นตัวอย่าง จนแน่ใจว่าไม่มีตัวอย่างติดค้างปิเปต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำหลอดกลั่นตัวอย่างต่อเข้ากับเครื่อง แล้วเปิดให้ไอน้ำไหลเข้าในหลอดกลั่นตัวอย่าง กลั่นจนกระทั่งปริมาตรของสารละลายในขวดรูปชมพู่ที่รองรับมีปริมาตรเพิ่มขึ้นเป็น 40 มิลลิลิตร หยุดการกลั่นและใช้กระบอกน้ำกลั่นชนิดล้างปลาย condenser ให้สารละลายที่ติดค้างอยู่ไหลรวมกันในขวดรูปชมพู่ ปิดจุกแล้วนำขวดรูปชมพู่ดังกล่าวไปแช่ไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 60-62 องศาเซลเซียส นาน 20-25 นาที เพื่อให้ปฏิกิริยา oxidation สมบูรณ์

1.2.2 การไตเตรต

นำสารละลายในขวดรูปชมพู่ ที่ได้จากขั้นตอนในข้อ 1 มาไตเตรตกับสารละลาย ammonium ferrous sulfate จนได้สารละลายสีน้ำตาลแดง จากนั้นเติม o-phenanthroline indicator 0.5 มิลลิลิตร แล้วไตเตรตต่อไป จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเขียวจืด ซึ่งเป็นจุดยุติ บันทึกปริมาตรของสารละลาย ammonium ferrous sulfate ที่ใช้ (A)

ไตเตรต blank โดยใช้สารละลาย $K_2Cr_2O_7$ 25 มิลลิลิตร นำมาไตเตรตโดยตรงกับสารละลาย ammonium ferrous sulfate และบันทึกปริมาตรที่ได้ (B)

คำนวณหาปริมาณ เอธิลแอลกอฮอล์ ดังนี้

$$\text{ปริมาณ ethyl alcohol} = \frac{25 - ((25)(A/B))}{(\text{น้ำหนัก/ปริมาตร})}$$

หมายเหตุ

สารละลาย ammonium ferrous sulfate สามารถถูก oxidize อย่างช้าๆ โดยอากาศ ดังนั้นจึงควรหาค่า blank ทุกวันที่ทำการวิเคราะห์ และไม่ควรใช้สารละลายนี้ปล่อยทิ้งไว้ในบิวเรตเกิน 30 นาที

2. การวิเคราะห์ค่า Acetaldehyde

2.1 การเตรียมสาร

- 2.1.1 Potassium metabisulfite solution : ละลาย $K_2S_2O_5$ ในน้ำ เติม HCl 70 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น
- 2.1.2 Phosphate-EDTA solution : ละลาย KH_2PO_4 72.6 กรัม, NaOH 42 กรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 2.1.3 Dilute hydrochloric acid : ละลาย HCl 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น
- 2.1.4 Sodium borate solution : ผสม H_3BO_3 100 กรัมกับ NaOH 170 กรัมปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

2.2 การทดลอง

- 2.2.1 ปิเปตตัวอย่างไวน์ 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีน้ำที่ไล่อากาศออก
- 2.2.2 เติม Potassium metabisulfite solution 10 ml.
- 2.2.3 ปิดฝา เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที
- 2.2.4 เติม Phosphate-EDTA solution 10 ml.
- 2.2.5 ปรับพีเอชของสารละลายด้วย NaOH หรือ HCl solution
- 2.2.6 ปิดฝา เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที
- 2.2.7 เติม HCl solution 10 ml.
- 2.2.8 เติมน้ำแป้ง 0.2% เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ 10 ml.
- 2.2.9 เติม 0.1 N I solution 10 ml. หรือให้มากเกินไปจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีฟ้าอ่อน
- 2.2.10 เติม Sodium borate solution 10 ml.
- 2.2.11 ไตเตรตทันทีด้วย 0.05 N I solution จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีฟ้าอ่อน บันทึกปริมาตรที่ใช้

ภาคผนวก ค

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสในการชิมไวน์
(Wine Tasting Score Card)

ชื่อผู้ชิม..... วันที่.....

ลักษณะของไวน์	คะแนนและความเห็น						
	รหัด	รหัด	รหัด	รหัด	รหัด	รหัด	รหัด
ลักษณะปรากฏ							
กลิ่น							
รสชาติ							
คุณภาพโดยรวม							

ระดับคะแนนในการชิม

- 7 ชอบมากเป็นพิเศษ
- 6 ชอบมาก
- 5 ชอบ
- 4 ใช้ได้
- 3 เกือบใช้ได้
- 2 ไม่ชอบ
- 1 ไม่ชอบมากที่สุด

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ สงวนลิขสิทธิ์ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวเมธิณี เถลิงรัมย์ เกิดวันที่ 29 พฤษภาคม พ.ศ. 2524 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย เมื่อปี พ.ศ. 2543 จากโรงเรียนบุรีรัมย์พิทยาคม จังหวัดบุรีรัมย์ และปี พ.ศ. 2547 จบการศึกษาระดับปริญญาตรีหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้