



ใบรับรองปริญญาพิเศษ

เรื่อง ไวน์ส้ม

(WINE FROM ORANGE)

โดย น.ส.พรทิภา ฤกษ์รัตนวราพร

ได้รับพิจารณาเห็นชอบจาก...

..... ๓๐/๙/๓๒ อาจารย์ที่ปรึกษาพิเศษ
(อาจารย์พอใจ สัมพันธ์อุดม)

..... ๒๕/๙/๓๒ กรรมการของภาควิชา
(อาจารย์ยอนงค์ วรอุไร)

..... 31/๑๐/๓๒ กรรมการของภาควิชา
(อาจารย์ระติพร หาเรือนกิจ)

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....
(น.ส.เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิสุทธิ์)

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 31 เดือน ๙ พ.ศ. ๓๒

๒๖๙.
๗ ๒ ๔ ๑ ๑
๒ ๕ ๘ ๑

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13674

ปัญหาพิเศษ(45497)

เรื่อง

ไวน์ส้ม

(Wine from Orange)



T096992

โดย

น.ส.พรทิตา ฤกษ์รัตนวราพร

เสนอ

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

คณะเทคโนโลยีการเกษตร



๑๗.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

พ ๒๕๑๖

เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

๒๕๓๑

เลขหมู่.....

พ.ศ. ๒๕๓๑

เลขทะเบียน.....

วันเดือนปี.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

ส้มเขียวหวานเป็นผลไม้ที่มีมากเกือบตลอดปี ราคาถูก มีปริมาณน้ำมากและมีรสเปรี้ยวอมหวาน ดังนั้นส้มเขียวหวานจึงเหมาะที่จะนำมาแปรรูปเป็นเครื่องดื่มอัลกอฮอล์ประเภทไวน์ได้ โดยทำการศึกษาถึงสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมสำหรับการหมักไวน์ส้มโดยใช้เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae AG 1 ไคแก่ อัตราส่วนของน้ำส้มต่อน้ำ โดยแปรความเข้มข้นของอัตราส่วนน้ำส้ม : น้ำ จาก 100 : 0 , 75 : 25 , 50 : 50 , 25 : 75 แปรปริมาณอิมโมเนียมซัลเฟต 0.05 % , 0.1 % , 0.15 % , 0.2 % 0.3 % แปรปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 15 % , 20 % , 22 % , 25 % , 30 % และ 40 % แปรปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้น 3 % , 5 % , 7 % , 10 %

จากการหมักและตรวจสอบทางเคมีพบว่า สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักคืออัตราส่วนน้ำส้ม : 50 : 50 ปริมาณอิมโมเนียมซัลเฟต 0.05 % ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 25 % และปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้น 7 % ซึ่งที่สภาวะดังกล่าวนี้จะให้ผลิตภัณฑ์ที่ดีกว่าสภาวะอื่น ๆ คือ ได้ปริมาณแอลกอฮอล์ 7.8 % มีปริมาณน้ำตาลสุดท้าย 9 % กรด 0.7 % ในระหว่างการหมักใช้ Potassium metabisulfite ในปริมาณ 200 ppm เป็น Preservative

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	(1)
สารบัญภาพ	(2)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	1
การตรวจเอกสาร	2-11
อุปกรณ์และวิธีการ	12-13
ผลและวิจารณ์ผล	14-29
สรุปผลการทดลองและ	
เอกสารอ้างอิง	
ภาคผนวก	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ปริมาณเซลล์สีส้มในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนต่าง ๆ	16
ตารางที่ 2 ปริมาณน้ำตาลในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนต่าง ๆ	16
ตารางที่ 3 ปริมาณกรดในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนต่าง ๆ	17
ตารางที่ 4 ปริมาณอัลคอกฮอลในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนต่าง ๆ	17
ตารางที่ 5 ปริมาณเซลล์สีส้มในน้ำหมักที่มีปริมาณไขมันเนี่ยมซัลเฟตต่าง ๆ	18
ตารางที่ 6 ปริมาณน้ำตาลในน้ำหมักที่มีปริมาณไขมันเนี่ยมซัลเฟตต่าง ๆ	18
ตารางที่ 7 ปริมาณกรดในน้ำหมักที่มีปริมาณไขมันเนี่ยมซัลเฟตต่าง ๆ	19
ตารางที่ 8 ปริมาณอัลคอกฮอลในน้ำหมักที่มีปริมาณไขมันเนี่ยมซัลเฟตต่าง ๆ	19
ตารางที่ 9 ปริมาณเซลล์สีส้มในน้ำหมักที่มีน้ำตาลเริ่มต้นในระคับต่าง ๆ	20
ตารางที่ 10 ปริมาณน้ำตาลในน้ำหมักที่มีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นในระคับต่าง ๆ	20
ตารางที่ 11 ปริมาณอัลคอกฮอลในน้ำหมักที่มีน้ำตาลเริ่มต้นต่าง ๆ	21
ตารางที่ 12 ปริมาณกรดในน้ำหมักที่มีน้ำตาลเริ่มต้นต่าง ๆ	21
ตารางที่ 13 ปริมาณเซลล์สีส้มในน้ำหมักที่มีเซลล์เริ่มต้นต่าง ๆ	22
ตารางที่ 14 ปริมาณน้ำตาลในน้ำหมักที่มีเซลล์เริ่มต้นต่าง ๆ	22
ตารางที่ 15 ปริมาณกรดในน้ำหมักที่มีปริมาณกรดยีสต์ เริ่มต้นต่าง ๆ	23
ตารางที่ 16 ปริมาณอัลคอกฮอลในน้ำหมักที่มีปริมาณกรดยีสต์ เริ่มต้นต่าง ๆ	23
ตารางที่ 17 ผลการหมักไวน์ในสภาวะที่หาได้จากกรทดลอง	24

สารบัญภาพ

ภาพที่ 1	แผนภูมิการทำไวน์	หน้า 4-5
ภาพที่ 2	การผลิตไวน์และผลพลอยได้จากไวน์	9
ภาพที่ 3	ปริมาณอัลกอฮอล์ในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนน้ำส้ม : น้ำ	25
ภาพที่ 4	ปริมาณอัลกอฮอล์ในน้ำหมักที่มีปริมาณอิม โมนีเยมซัลเฟตในระกบต่าง ๆ	26
ภาพที่ 5	ปริมาณอัลกอฮอล์ในน้ำหมักที่มีปริมาณน้ำตาล เริ่มต้นในระกบต่าง ๆ	27
ภาพที่ 6	ปริมาณอัลกอฮอล์ในน้ำหมักที่มีปริมาณกลูตาซีอียีสต์ เริ่มต้นในระกบต่าง ๆ	28
ภาพที่ 7	ปริมาณเซอียีสต์ที่มีชีวิต น้ำตาล และอัลกอฮอล์ในน้ำหมัก สภาวะที่เหมาะสมในวันที่ 5	29
ภาพที่ 8	Counting Chamber	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ส้มเขียวหวานเป็นผลไม้ชนิดหนึ่งซึ่งมีมากในประเทศไทย โดยเฉพาะในฤดูกาลของส้มแล้ว จะมีส้มในปริมาณมากเกินความต้องการ ทำให้ส้มราคาถูกลง ดังนั้นจึงควรมีการแปรรูปส้มเพื่อสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่ทำจากส้มได้นานยิ่งขึ้น ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ นี้ ได้แก่ น้ำส้มเข้มข้น น้ำส้มผ่านขบวนการให้ความร้อนต่าง ๆ (น้ำส้ม UHT) ไวน์ส้ม เป็นต้น

ไวน์ส้มเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ซึ่งได้จากการหมักน้ำส้มด้วยเชื้อยีสต์ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นนี้มีผลมาจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น ชนิดของจุลินทรีย์ ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น เป็นต้น ดังนั้นจึงควรมีการปรับปรุงประสิทธิภาพการหมัก โดยศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตผลิตภัณฑ์ของเชื้อจุลินทรีย์

วัตถุประสงค์

เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักไวน์ส้ม ไตแก่ อัตราส่วนน้ำตาลต่อน้ำ ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น ปริมาณอิมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณกลูตาเมตเริ่มต้น

ตรวจเอกสาร

ส้มเขียวหวานเป็นผลไม้ที่อยู่ใน family Rutaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ ว่า *Citrus reticulata* Blanco คุณค่าทางอาหารของส้มเขียวหวานประกอบด้วย น้ำ 89.39 % กาก 0.71 % โปรตีน 0.41 % ไขมัน 0.58 % คาร์โบไฮเดรต 8.34 % ใย 0.34 % เหล็ก 0.0004 % ฟอสฟอรัส 0.026 % โพแทสเซียม 0.333 % นอกจากนี้ยังมีวิตามิน A B และ C อีกมาก ส้มเขียวหวานนอกจากจะใช้รับประทานสดแล้วยังสามารถนำมาทำผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ได้อีก เช่น ไวน์ส้ม น้ำส้มเข้มข้น ทำจากน้ำผลไม้ แยมผิวส้ม (marmalade) ทำ essential oil จากเปลือก และทำน้ำหอม bergamot จากผิวและดอก (หลวงบุเรศบุรุษการ 2519)

ไวน์ (Wine) เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งเช่นเดียวกับเหล้าและวิสกี้ แต่ต่างกับที่ไวน์ไม่มีการกลั่นและไวน์ทำจากน้ำผลไม้ (วิชัย 2521) โดยทั่วไป "ไวน์" หมายถึงเฉพาะที่หมักจากน้ำองุ่นเท่านั้น ไวน์ที่หมักจากแอปเปิลเรียกว่า ไวน์เชอร์รี่ ส่วนไวน์ผลไม้อื่น ๆ ก็เรียกชื่อตามด้วยชื่อผลไม้ชนิดนั้น ๆ เช่น ไวน์สับปะรด ไวน์มะยม ไวน์ส้ม เป็นต้น

ไวน์ส้มเป็นผลิตภัณฑ์อย่างหนึ่งที่ได้จาก alcoholic fermentation ของน้ำส้ม ซึ่งในการหมักนั้นจะมีองค์ประกอบที่สำคัญใหญ่ ๆ ก็คือ ผลไม้ (น้ำตาล) และยีสต์ ยีสต์สามารถเจริญได้ทั้งสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ในสภาพที่มีออกซิเจนยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นพลังงานและคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนในสภาพที่ขาดออกซิเจนยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ ดังสมการ



H.A. Amerine and V.L. Singleton 1972 กล่าวว่าในทางการค้าของผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ที่หมักจากน้ำตาลจะใช้เชื้อ Genus *Saccharomyces* จากสมการการหมักแอลกอฮอล์ของยีสต์จะให้คาร์บอนไดออกไซด์ 48.9 % และได้แอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

51.1 % โดยน้ำหนักน้ำตาลที่ใช้ แต่ในสภาพการหมักที่แท้จริงแล้วพบว่าประมาณ 95 % ของน้ำตาลกลูโคสเท่านั้นที่ถูกเปลี่ยนเป็นอัลกอฮอล์ (46.4 %) และคาร์บอนไดออกไซด์ (46.6 %) นอกจากนี้ยังพบว่าการหมักโดยใช้ *S. cerevisiae* ยังเกิดสารประกอบอื่น ๆ อีก ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการหมัก เช่น Glycerol Succinic-acid Eusel-alcohol เป็นต้น (Paul 1980 , Phaff 1976) จุลินทรีย์ในการหมักอัลกอฮอล์อาจจะใช้ยีสต์ รา หรือแบคทีเรีย ก็ได้ ขึ้นกับกรรมวิธีการผลิตและวัตถุดิบที่ใช้

ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่ง เพราะฉะนั้นจึงต้องการธาตุอาหารสำหรับขบวนการเมตาโบลิซึมของมัน ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับยีสต์ เช่น แหล่งคาร์บอน ซึ่งส่วนใหญ่ได้จากน้ำตาล แหล่งไนโตรเจน เชลยีสต์จะใช้ไนโตรเจนในรูปเกลืออนินทรีย์สำหรับสังเคราะห์โปรตีน โดยทั่วไปแล้วจะใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน เกลือแร่และวิตามิน ยีสต์ต้องการในปริมาณน้อยมาก นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ควบคุมการเจริญและอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ของยีสต์อีกเช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรดต่าง ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น ปริมาณ inhibitor เป็นต้น

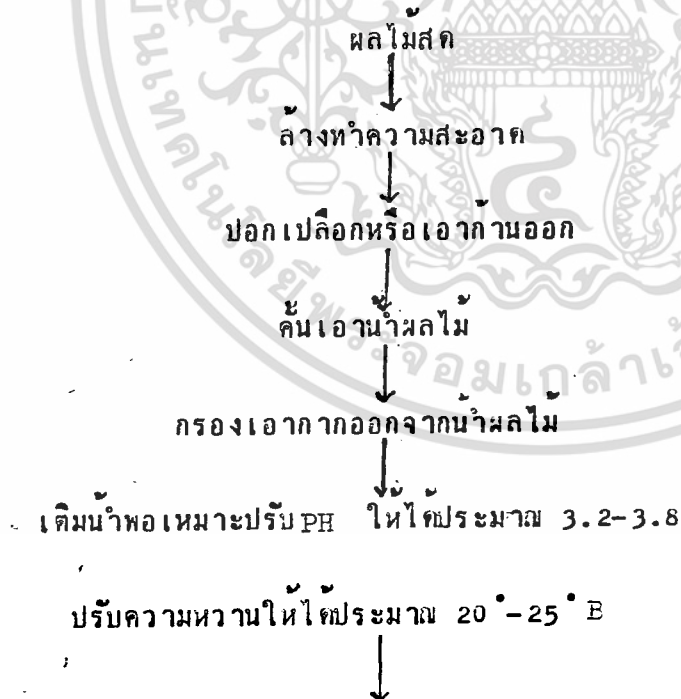
Reiser (1954) พบว่าการเจริญเติบโตของยีสต์ที่อยู่ในช่วง 30-32 °c การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจะมีผลต่อการใช้น้ำตาล คือที่อุณหภูมิสูงขึ้นอัตราการใช้น้ำตาลจะลดลงเนื่องจากการดูดซึมไฮโดรเจนของเซลล์ลดลง และที่อุณหภูมิต่ำการเจริญเติบโตของยีสต์จะช้า ส่วนความเป็นกรดต่าง (PH) ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของยีสต์โดยทั่วไปคือ 3.5-4.5 ปริมาณน้ำตาลที่สูงจะมีผลต่อการเจริญของยีสต์โดยตรง และทำให้เกิดอัลกอฮอล์สูง ซึ่งอัลกอฮอล์ที่สูงนี้จะมีผลไปยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์โดยทางอ้อม และถ้าปริมาณน้ำตาลสูงเกินไปจะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์เนื่องจากความเข้มข้นของน้ำตาลที่สูงมากทำให้เกิด Osmotic Pressure จนเป็นอันตรายต่อเซลล์ ส่วนปริมาณน้ำตาลต่ำ ๆ ก็จะทำให้ได้อัลกอฮอล์น้อย

Tyagi and Ghose (1982) ปริมาณเกลือแร่สูงจะมีผลยับยั้งการเจริญ

ของเซลล์ การผลิตอัลกอฮอล์จะต่ำ และอัตราการใช้น้ำตาลของยีสต์จะต่ำด้วย

Amerine M.A. (1972) กล่าวว่า ไวน์ส้มจะมีสีเหลืองออกคล้ำเล็กน้อย ส้มที่ใช้ในการหมักต้องเป็นส้มที่สุกแต่ไม่สุกจนเกินไป ถ้าคั้นส้มด้วยเครื่องมือจะทำให้ Essential oil จากเปลือกติดมากับน้ำผลไม้ทำให้การหมักช้า เนื่องจาก Orange oil เป็นพิษต่อยีสต์ เมื่อหมักไวน์ส้มแล้วก่อนที่จะกรองควรมีการเติม Orange oil หรือ Orange extract เพื่อกลิ่นที่แสดงว่าเป็นไวน์ส้ม การหมักจากน้ำส้ม (Orange juice) นั้นจะเกิดขึ้นเร็วเหมือนกับว่าน้ำส้มคืออาหารที่ดีของยีสต์ ก่อนหมักมีการปรับให้มีปริมาณน้ำตาลประมาณ $22^{\circ} - 23^{\circ} B$ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ประมาณ 200 ppm ของปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด ที่มหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนียมีการหมัก Orange wine ได้ปริมาณอัลกอฮอล์ถึง 18% ซึ่งทำได้โดยมีการเติมน้ำตาล 3-4 ครั้ง ในระหว่างการหมัก ซึ่งถือเป็นการหมักแบบใหม่

ภาพที่ 1 (เชื้อยีสต์และคณะ 2519)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฆ่าเชื้อที่ติดมากับวัตถุดิบ อาจทำได้โดยใช้ autoclave
15 ปอนด์/ตารางนิ้ว 15 นาที หรือใช้สารเคมีก็ได้

↓
ทิ้งไว้ให้เย็นหรือทิ้งไว้อย่างน้อย 6 ชั่วโมงในกรณีที่ใช้
สารเคมีเติมสำยีสต์ (Starter) ที่กำลังโตซึ่งมีอายุประมาณ
18 - 24 ชั่วโมง

↓
หมักที่อุณหภูมิห้องจนไวน์เริ่มใส ไม่มีฟองอากาศหุดและเชื้อ
ยีสต์ตกตะกอนนอนก้น

↓
ใช้สายยางดูดส่วนใส (Racking) เข้าสู่ขวดที่สะอาดใบ
หนึ่งบีคจุกด้วยสำลี

↓
ตกตะกอนโดยเติมสารที่ทำให้ใส

↓
กรองแยกตะกอนออกโดยใช้เครื่องสูบลมอากาศซึ่งมีกระดาษ
กรองและ diatomaceous earth หรือใช้วิธี centrifuge

↓
ฆ่าเชื้อโดยวิธี Pasteurization หรือใช้สารเคมีพวก
SO₂ ก็ได้

↓
บ่ม

↓
บรรจุขวด

หลักการทำไวน์ ดังภาพที่ 1

1. การเตรียมน้ำผลไม้ ผลไม้ที่จะนำมาทำไวน์นั้นควรจะมีรสเปรี้ยวอมหวาน รสฝาด
เล็กน้อย ไม่เน่าเสีย ไม่มีเพศดินมาก (เพื่อสะดวกในการทำไวน์ให้ใส) นอกจากนี้
นี้ยังควรมีกลิ่นหอมอีกด้วย หลังทำความสะอาดผลไม้และคั้นน้ำผลไม้แล้วก็ควรทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำผลไม้ที่มีลักษณะที่เหมาะสมทั้งในด้านความเป็นกรดต่าง และปริมาณน้ำตาลเพื่อความจำเป็นในการเจริญเติบโตของยีสต์ ซึ่งโดยปกติแล้ว PH ที่เหมาะสมคือ 3.2-3.8 และความหวานที่เหมาะสมประมาณ 20° - 25° B วัดโดย Hand refractometer

2. การยับยั้งหรือการทำลายจุลินทรีย์ในน้ำผลไม้ ขั้นตอนนี้อาจทำได้โดยการให้ความร้อนหรือใช้สารเคมี การใช้ความร้อนมีข้อเสียคือ อาจมีผลทำลายกลิ่นรส ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพไม่ดีเท่าที่ควร ส่วนสารเคมีนั้น ที่นิยมใช้กัน ได้แก่ $K_2S_2O_5$, $Na_2S_2O_5$, K_2SO_3 , $NaSO_4$ เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้เมื่ออยู่ในสภาพสารละลายจะมีสภาพเป็นกรดและเปลี่ยนเป็นซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) ซึ่งจะแตกตัวออกเป็นเกลือไบซัลไฟท์ (H_2SO_3) เกลือไบซัลไฟท์แบ่งออกเป็น 2 พวก คือ Bound HSO_3^- form และ Free HSO_3^- form พวก Bound HSO_3^- form นั้นจะรวมตัวกับโปรตีนหรือน้ำตาลเป็น aldehyde เพราะฉะนั้น Bound HSO_3^- form จึงไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ส่วนพวก Free HSO_3^- form นั้นจะมีผลในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเกลือไบซัลไฟท์ที่ใช้ในการฆ่าเชือนั้นจะมีผลในการฆ่าเชื้อเพียงครึ่งหนึ่งเท่านั้น เกลือไบซัลไฟท์นี้จะแตกตัวเต็มที่ที่ PH 3.5 การใช้เกลือไบซัลไฟท์ในการฆ่าเชือนี้มีข้อจำกัด คือต้องทิ้งไว้ประมาณ 6 ชั่วโมง จึงเติมเชื้อสายยีสต์ (Starter) ลงไปได้ มิฉะนั้นแล้วเกลือนี้อาจทำให้ยีสต์หยุดการเจริญเติบโตหรือตายได้

เกลือไบซัลไฟท์ที่นิยมใช้ในรูปโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ ($K_2S_2O_5$) ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ใช้ คือ 120 พีพีเอ็ม แต่ถ้าใช้ในรูป Potassium metabisulfite จะต้องใช้ถึง 2 เท่า (ลูกจันทร์ 2522)

3. ช่วงการหมัก โดยเชื้อยีสต์ที่เติมลงไป ช่วงนี้เริ่มจากการแบ่งน้ำผลไม้ออกมา 2-5 % เพื่อเตรียมให้ยีสต์แบ่งตัวมีปริมาณมากพอก่อนที่จะนำไปเติมในน้ำผลไม้ทั้งหมด เรียกว่า การหว่านเชื้อ (Starter) (เชิศจัยและคณะ 2529) ขั้นตอนการเตรียม Starter

นี้สำคัญมาก เพราะถ้าจุดเริ่มต้นไม่ดีแล้วย่อมทำให้ไวน์คุณภาพไม่ดีด้วย การทำ Starter ทำได้โดยเชื้อเชื้อจาก PDA Slant ที่มีอายุประมาณ 18-24 ชั่วโมง ใส่ลงในน้ำผลไม้ที่แบ่งมา เพื่อ Starter อายุประมาณ 18-24 ชั่วโมง จึง ปล่อยให้ยีสต์กระจายตัวไปทั่วทุกจุดหรือเขย่าไป มา 4-5 เทียว หลังจากเติมสำเชื้อลงไปประมาณ 10 ชั่วโมง จะเห็นปริมาณก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์สูงขึ้นทำให้เนื้อของผลไม้ลอยตัวมาปิดผิวหน้า เมื่อทิ้งไว้จะเห็นว่า ปริมาณก๊าซลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก จะได้ไวน์ที่เรียกว่าไวน์สด ซึ่งไวน์สดจะมีกลิ่นรสไม่กลมกล่อม ไม่หอม

วิจัย(2521) กล่าวว่า การใส่กากของเนื้อผลไม้ลงไปในช่วงหมัก มีข้อดี คือขณะที่การหมักเริ่มขึ้น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะพุ่งให้กากผลไม้ลอยขึ้นตอนบนปิดผิวหน้า ผลไม้ด้านบน ซึ่งเป็นการป้องกันยีสต์และแบคทีเรียบางตัวที่จะปนเปื้อนให้ไวน์เสีย ช่วยสกัด สีส กลิ่น รส จากเนื้อผลไม้ และข้อเสีย ของการหมักทั้งกากเนื้อผลไม้ก็คือ จะทำให้ ไวน์ใสช้ากว่าปกติ และเพิ่มเพนินเจอบนในไวน์มากขึ้น ความขมเพิ่มขึ้น การเก็บพักมี ระยะยาวนานขึ้นกว่าเดิม นอกจากนี้ยังต้องกวนไวน์ขณะหมัก วันละ 1-2 ครั้ง เพื่อ มิให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สะสมในขวดมากเกินไป จะทำให้ยีสต์ชะงักการทำงาน

4. การฆ่าเชื้อยีสต์ เนื่องจากไวน์สดมีรสชาติไม่กลมกล่อม ไม่หอม เก็บได้ไม่นาน ดังนั้นจึงมีการนำไวน์สดมาผ่านขบวนการต่อไป เริ่มจากการนำไวน์สดมาทำการ Basteurization และแยกเอากากออกจากไวน์สด เพราะในกากนี้จะมียีสต์ที่ตาย แล้วเป็นจำนวนมาก ซึ่งยีสต์นี้จะย่อยตัวเอง (autolysis) ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ ต้องการและยังเป็นอาหารอย่างหนึ่งของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอีกด้วย

5. การทำไวน์ให้ใส การทำไวน์ให้ใสจะต้องทราบสาเหตุก่อนว่า ไวน์นั้นขุ่นเนื่องจากอะไร และระดับความใสที่ต้องการ สารที่ช่วยในการตกตะกอนสามารถแบ่งได้เป็น 3 พวก คือ โปรตีน adsorbent และโลหะ

ตัวอย่างโปรตีนที่ใช้ในการทำไวน์ให้ใสได้แก่ Egg albumin, pectinase ส่วน adsorbent ที่ใช้กันมากคือ bentonite และ โลหะที่ใช้กันเช่น โปแตสเซียม เหล็ก ทองแดง แมกนีเซียม เป็นต้น (เชิษฐ์และคณะ 2519)

6. การบ่มไวน์ (Aging หมายถึง กรรมวิธีการเก็บพักไวน์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อยีสต์แล้ว ในภาชนะที่ปิดสนิทภายใต้อุณหภูมิที่ควบคุมเพื่อวัตถุประสงค์ให้ไวน์นั้นมีการเปลี่ยนแปลง ด้านเคมี เพิ่มความหอม เพื่อให้สารแขวนลอยบางชนิดตกตะกอนและเพื่อลดความขบาคของไวน์
7. การบรรจุขวด ไวน์จากถังบ่มจะถูกสูบน้ำไปบรรจุขวดอย่างรวดเร็วซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว การบรรจุขวดควรให้เหลือที่ว่างน้อยที่สุด แล้วรีบปิดจุกทันที ด้วยจุกคอร์กหรือจุกพลาสติก ตามด้วยฝาเกลี้ยงเพื่อป้องกันอากาศเข้า

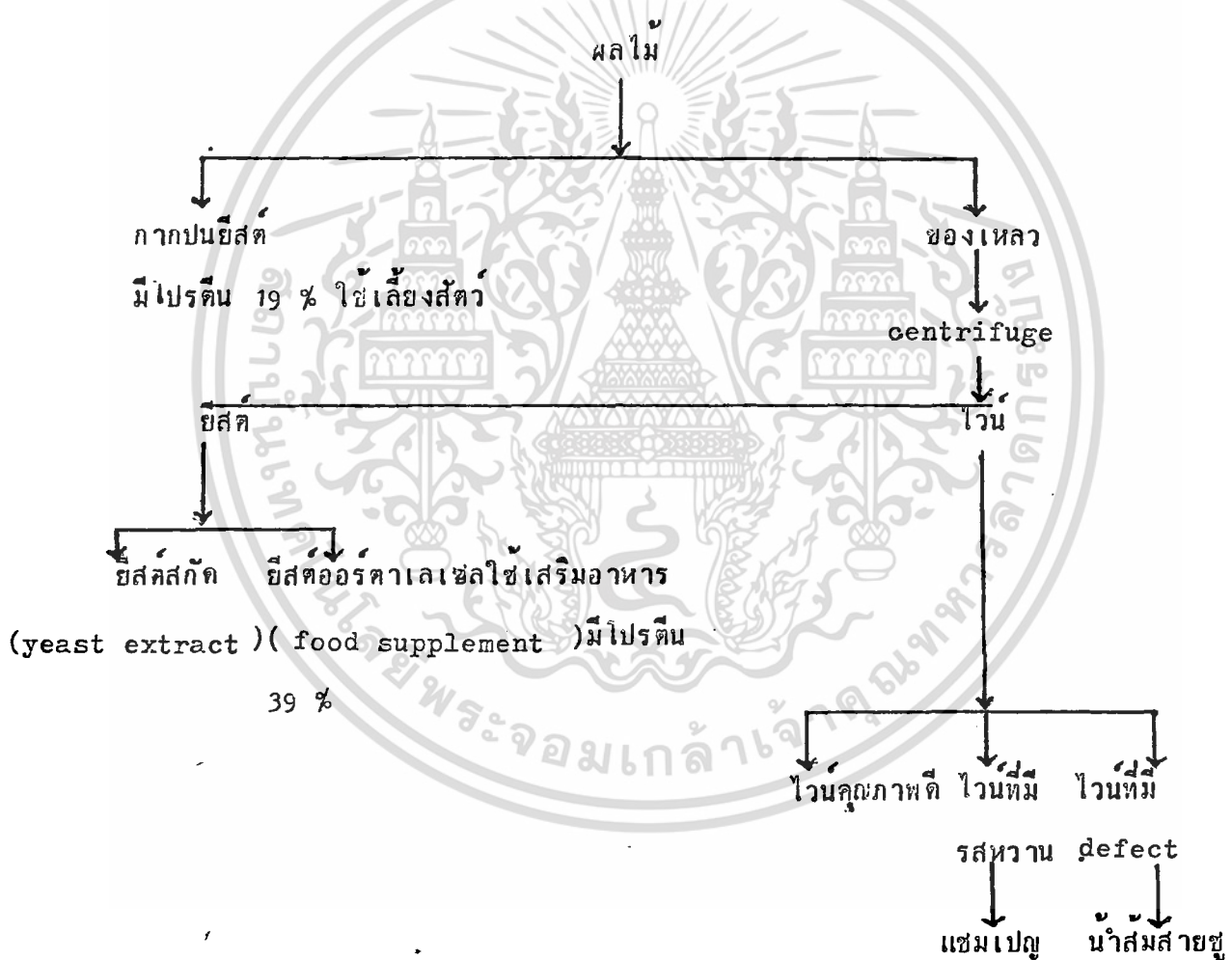
ปัญหาการทำไวน์ผลไม้ที่ควรระวัง (ประติษฐ์ 2520)

1. ผลไม้ส่วนใหญ่ไม่ค่อยมีความหวานตามต้องการต้องเติมน้ำตาลเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังมีกรดไม้พอ จำเป็นต้องเติมกรด ยิ่งหากเติมมากไปทำให้มีรสฝืน-ขม
2. การตีปั่นผลไม้ ถ้าหยาบเกินไปทำให้ได้น้ำผลไม้เนย แต่ถ้าละเอียดเกินไปทำให้หน้าผลไม้ขุ่นข้นและจะทำให้ใสได้ยาก
3. การเติมน้ำนั้นต้องเติมให้พอเหมาะ เพื่อรักษากลิ่นรสของผลไม้ นั้น ๆ
4. เลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสม
5. น้ำผลไม้ส่วนใหญ่ขาดแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ ที่ทำให้การหมักไม่เสร็จสิ้น
6. แม้งและเพคตินในน้ำผลไม้ทำให้ไวน์ขุ่น ไม่ใสตามที่ต้องการ แม้ว่าจะทำให้ตกตะกอนหรือกรอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ยากที่จะควบคุมรักษาสีของไวน์ที่ผลิตให้มีสีของผลไม้ นั้น ๆ ได้
8. ปัญหาในการรักษากลิ่นของผลไม้ นั้น ๆ ในไวน์
9. ปัญหาการเก็บไวน์ได้ไม่นานนัก เก็บนานคุณภาพไม่ดีขึ้น แต่กลิ่นรสก็อาจเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ต้องการ

แผนภาพที่ 2 การผลิตไวน์และผลพลอยได้จากไวน์ (เทคซี่ 25 19)



จากรูปจะเห็นว่า นอกจากจะได้ไวน์ที่เราต้องการผลิตแล้ว ยังได้ผลพลอย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้อื่น ๆ อีกหลายอย่าง คือ

1. กากผลไม้ซึ่งมียีสต์ปน ได้จากการกรองไวน์หลังจากหมักจนได้ที่แล้ว กากนี้จะมีโปรตีนสูงถึง 19 % เหมาะที่ใช้ทำอาหารสัตว์
2. ยีสต์ได้จากการทำไวน์ เมื่อแยกออกมาให้บริสุทธิ์แล้วนำไปสกัดยีสต์ (yeast extract) เอาไว้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังใช้ทำเป็น yeast autolysate ซึ่งมีโปรตีนสูงถึง 39 % ซึ่งสามารถนำไปใช้เสริมคุณค่าทางโภชนาการได้
3. ไวน์ที่มีรสหวานเกินกว่าที่กำหนดไว้ ทำโดยใส่ยีสต์-แชมเปญลงไปเพื่อยีสต์นี้จะขึ้นน้ำตาลที่เหลืออยู่เป็น alcohol และ CO₂ Cg) ควรบรรจุในขณะที่ยังมีความดันได้มากกว่า 80 lb/in² เพื่อกันขวดระเบิด
4. ไวน์ที่มีคุณภาพรองลงมาเติมเชื้อ acetic acid bacteria ลงเพื่อหมักต่อให้เป็นน้ำส้มสายชูจากผลไม้
5. จุลินทรีย์ที่ใช้ทำน้ำส้มสายชู ถ้าเป็นพวก Acetobacter xylinum จะสร้างเซลลูโลสเป็นแผ่นลอยอยู่บนน้ำส้ม ซึ่งสามารถช้อนเอาไปใส่น้ำเชื่อมทำเป็นวุ้นสวรรค์

คุณและโทษของเครื่องพิมพ์ประเภทอัลกอฮอลล์ (ประดิษฐ์ 2520, สมยศ 2529)

คุณประโยชน์

1. ใช้เป็นเครื่องพิมพ์สำหรับคนที่ เป็น โรคเบาหวาน ซึ่งพิมพ์เครื่องพิมพ์ประเภทนี้ น้ำตาลไม่ได้เป็นอาหารเสริมของคนเป็นเบาหวาน
2. ใช้พิมพ์แก้หนาวเพราะอัลกอฮอลล์ดูดซึมได้เร็วและให้พลังงานทันที
3. ใช้พิมพ์ก่อนอาหาร ใช้เป็นตัวกระตุ้นหรือเรียกน้ำย่อย และช่วยให้อาหารอื่นดูดซึมง่าย
4. ใช้บำรุงอาหาร ผสมลงในอาหารก่อนหรือหลังปรุงเสร็จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ใช้ดื่มคู่กับอาหาร ซึ่งเป็นประเพณีของชาวยุโรป เช่น ดื่มไวน์แดงกับอาหารพวกเนื้อวัวหรือหมู และไวน์ขาวกับปลา เป็นต้น
6. ใช้ทางการแพทย์ ใช้ไวน์บำบัดความเจ็บป่วยเล็ก ๆ น้อย ๆ ใช้เป็นยาระงับความตื่นเต้น กังวล ช่วยให้เส้นเลือดขยายตัวในคนไข้ที่เป็นความดันต่ำ ช่วยให้การขับถ่ายปัสสาวะสะดวก

โทษ (สมยศ 2529) จะเกิดขึ้นเมื่อดื่มเกินขนาด ดังนี้

1. ทำให้ขาดสารอาหาร เนื่องจาก ethyl alcohol ให้พลังงาน 7.0 kcal/กรัม หรือ 5.6 kcal/cc และให้โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ซึ่งให้พลังงานอีกประมาณ 4.0 kcal/g ดังนั้น เมื่อดื่มมากทำให้ไม่รู้สึกริว และไม่รับประทานอาหารอื่น
2. ทำให้เกิดโรคตับแข็ง เพราะขาดโปรตีน และเมื่อร่างกายอ่อนเพลีย ไม่มีความต้านทานโรค ก็เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคแทรก
3. เมื่อดื่มพร้อมอาหาร ทำให้เกิดโทษเพราะ ethyl alcohol ให้พลังงานเพียงพอแล้ว จึงทำให้เหลือไขมันและคาร์โบไฮเดรต ทำให้อ้วน เส้นเลือดอุดตัน ความดันสูง โรคหัวใจ คือยังผลให้ระบบประสาทมีเม้า
4. เกิดปัญหาสังคม เมื่อดื่มมาก เกิดความเดือดร้อนเงิน ขาดความรับผิดชอบในงาน ความสุขในครอบครัว เกิดปัญหาอาชญากรรม

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

- น้ำส้ม
- เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae AG 1
- Potassium metabisulfite , citric acid , ammonium Sulfate, Sugar
- เครื่องแก้วที่ใช้ในการวิเคราะห์และชาวหมัก
- p-H meter , Refractometer , autoclave
- เครื่องกรอง
- diatomaceous earth

วิธีการ

ทำตามภาพที่ 1 โยยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ตอน คือ

- ตอนที่ 1 แปรความเข้มข้นของน้ำส้ม : น้ำ ในอัตราส่วนต่าง ๆ 100 : 0
75 : 25 , 50 : 50 และ 25 : 25
- ตอนที่ 2 แปรผันความเข้มข้นของอิมโมเนียมซัลเฟตจาก 0.05 % , 0.1 %
0.15 % , 0.2 % , 0.3 %
- ตอนที่ 3 แปรผันความเข้มข้นของหวานเริ่มต้นในปริมาณต่าง ๆ ตั้งแต่
15 °B , 20 °B , 22 °B , 25 °B , 30 °B และ 40 °B
- ตอนที่ 4 แปรผันความเข้มข้นของปริมาณกลูตาเมตยีสต์ 3 % , 5 % , 7 %
10 %
- ตอนที่ 5 หมักไวน์ส้มในสภาวะที่เหมาะสมที่หาได้จาก การทดลองนี้

การตรวจวิเคราะห์

เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 5 วัน แล้วนำมาวิเคราะห์หา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- จำนวนเซลล์สัณยวิธี Haemocytometer
- หาเปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Lane and Eynon (AOAC 1975)
- หาเปอร์เซ็นต์เอธิลแอลกอฮอล์ด้วยวิธีของ Amerine and Ough (1974)
- หาเปอร์เซ็นต์กรดด้วยวิธีไทเทรท (AOAC 1975)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 หาอัตราส่วนน้ำส้มต่อน้ำที่เหมาะสม

โดยใช้ส่วนผสมน้ำในอัตราส่วน 100 : 0 , 75 : 25 , 50 : 50 และ 25 : 75 (โดยปริมาตร) มีพีเอช 3.5 ปริมาณเชื้อยีสต์ 5 % น้ำตาลรีตีวซ์เริ่มต้น 20 % ปริมาณอัมโมเนียมซัลเฟต 0.05 % หมักเป็นเวลา 5 วัน ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 1-4

ตอนที่ 2 หาปริมาณอัมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสม

โดยใช้อัตราส่วนในตอนที่ 1 คือ 50 : 50 น้ำตาลรีตีวซ์เริ่มต้น 20 % พีเอช 3.5 ปริมาณกลูโคส 5 % ปริมาณอัมโมเนียมซัลเฟต 0.05 , 0.1 , 0.15 , 0.2 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 5-8

ตอนที่ 3 หาปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์เริ่มต้นที่เหมาะสม

โดยใช้อัตราส่วนจากตอนที่ 1 และปริมาณอัมโมเนียมซัลเฟตจากตอนที่ 2 (คือ 50 : 50 และ 0.05 %) ปริมาณกลูโคส 5 % ปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์เริ่มต้นจาก 15 , 20 , 22 , 25 , 30 , และ 40 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองทั้งแสดงในตารางที่ 9-12

ตอนที่ 4 หาปริมาณกลูโคส (Starter) เริ่มต้นที่เหมาะสม

โดยใช้ส่วนผสมน้ำส้มต่อน้ำ 50 : 50 อัมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ความหวานเริ่มต้น 25° บริกซ์ และปริมาณกลูโคส 3 , 5 , 7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 13-16

จากนั้นจึงทำการหมักโดยใช้สภาวะแวดล้อมที่หาได้จากผลการทดลองตอนที่ 1

ถึงตอนที่ 4 คือ ปริมาณน้ำส้มต่อน้ำ 50 : 50 ปริมาณอัมโมเนียมซัลเฟต 0.05 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำคาร์ทีวซ์เริ่มต้น 25 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณกล้าเชื้อยีสต์เริ่มต้น 7 %
ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 17



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1

วัตถุประสงค์ ศึกษาอัตราส่วนน้ำส้ม : น้ำที่เหมาะสม เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสม

ตารางที่ 1 ปริมาณเซลล์ยีสต์ในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนน้ำส้ม : น้ำต่างกัน

เวลา (วัน)	อัตราส่วนน้ำส้ม : น้ำ (% โดยปริมาตร)			
	100 : 0	75 : 25	50 : 50	25 : 75
0	8.67×10^8	7.81×10^8	8.0×10^8	8.67×10^8
1	4.17×10^9	3.51×10^9	3.03×10^9	2.98×10^9
2	5.13×10^9	4.67×10^9	4.55×10^9	9.67×10^8
3	3.79×10^9	3.19×10^9	3.67×10^9	5.33×10^8
4	7.5×10^8	9.2×10^8	2.65×10^9	3.70×10^8
5	7.8×10^8	5.13×10^8	3.51×10^8	1.67×10^8

ตารางที่ 2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนต่างๆ

เวลา(วัน)	อัตราส่วนน้ำส้ม : น้ำ (% โดยปริมาตร)			
	100 : 0	75 : 25	50 : 50	25 : 25
0	20.25	20.25	20.25	20.25
1	10.25	11.00	10.25	12.25
2	9.75	10.00	10.00	10.00
3	8.50	8.40	8.10	8.55
4	4.60	4.60	4.00	8.10
5	4.10	4.60	4.00	8.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ปริมาณกรดในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนต่าง ๆ

เวลา (วัน)	อัตราส่วนน้ำส้ม : น้ำ (% โดยปริมาตร)			
	100.0	75. : 25	50 : 50	25 : 75
0	1.085	0.875	0.735	0.42
1	1.12	0.91	0.77	0.47
2	1.085	0.875	0.70	0.42
3	1.05	0.875	0.70	0.385
4	1.05	0.84	0.665	0.35
5	1.05	0.84	0.665	0.35

ตารางที่ 4 ปริมาณอัลกอฮอล์ในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนต่าง ๆ

เวลา (วัน)	อัตราส่วนน้ำส้ม : น้ำ (% โดยปริมาตร)			
	100.0	75 : 25	50 : 50	25 : 25
0	0	0	0	0
1	3.69	3.07	3.58	2.54
2	4.75	5.30	5.62	3.63
3	5.33	5.62	6.13	5.11
4	6.00	6.54	8.18	5.11
5	7.66 ^b	7.67 ^b	8.18 ^a	5.11 ^c

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการ **96992** ศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนที่ 2 ศึกษาหาปริมาณอัมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสม

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณเฉลี่ยสดในน้ำหมักที่มีอัมโมเนียมซัลเฟตต่าง ๆ

เวลา (วัน)	ปริมาณอัมโมเนียมซัลเฟต (% โดยปริมาตร)				
	0.05	0.1	0.15	0.2	0.3
0	5.1×10^8	5.73×10^8	5.5×10^8	6.17×10^8	5.73×10^8
1	7.00×10^8	8.13×10^8	2.13×10^9	2.67×10^9	2.66×10^8
2	3.28×10^9	1.8×10^9	1.98×10^9	1.93×10^9	2.04×10^9
3	4.9×10^9	2.82×10^9	1.64×10^9	1.04×10^9	1.42×10^9
4	2.5×10^9	3.0×10^9	7.90×10^8	6.93×10^8	8.67×10^8
5	3.50×10^9	1.29×10^9	5.93×10^8	5.57×10^8	1.11×10^9

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณน้ำตาลในน้ำหมักที่มีปริมาณอัมโมเนียมซัลเฟตต่าง ๆ

เวลา (วัน)	ปริมาณอัมโมเนียมซัลเฟต (%)				
	0.05	0.1	0.15	0.2	0.3
0	19.5	19.5	19.5	19.5	20.0
1	12.25	12.25	12.20	9.75	8.60
2	9.75	8.30	7.25	6.50	5.50
3	5.70	4.80	4.50	3.50	3.90
4	4.20	3.6	3.9	3.1	3.50
5	4.20	3.6	3.9	3.1	3.50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ปริมาณกรดในน้ำหมักที่มีปริมาณอิมโมเนียมซัลเฟตต่าง ๆ กัน

เวลา (วัน)	ปริมาณอิมโมเนียมซัลเฟต (% โขยปริมาณ)				
	0.05	0.1	0.15	0.2	0.3
0	0.77	0.84	0.84	0.84	1.015
1	0.805	0.84	0.875	0.875	0.945
2	0.77	0.805	0.84	0.945	0.015
3	0.77	0.77	0.84	0.84	0.98
4	0.70	0.735	0.70	0.84	0.945
5	0.70	0.735	0.85	0.84	0.945

ตารางที่ 8 แสดงปริมาณอัลคอกซอลในน้ำหมักที่มีปริมาณอิมโมเนียมซัลเฟตต่าง ๆ กัน

เวลา (วัน)	ปริมาณอิมโมเนียมซัลเฟต (% โขยปริมาณ)				
	0.05	0.1	0.15	0.2	0.3
0	-	-	-	-	-
1	1.50	1.6	2.55	2.91	4.54
2	2.55	2.91	5.54	5.51	6.48
3	4.84	5.10	6.97	7.07	7.65
4	6.97	6.70	7.3	7.8	7.65
5	7.58 ^a	7.94 ^a	7.3 ^a	7.8 ^a	8.0 ^a

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนที่ 3 ศึกษาหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นที่เหมาะสม

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณเซลล์ในน้ำหมักที่มีน้ำตาลเริ่มต้นในระดับต่าง ๆ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น (%)					
	15	20	22	25	30	40
0	1.33×10^9	1.28×10^9	1.24×10^9	1.43×10^9	1.42×10^9	1.37×10^9
1	3.37×10^9	4.24×10^9	3.78×10^9	3.66×10^9	3.24×10^9	0
2	1.43×10^9	8.06×10^8	3.00×10^9	3.11×10^9	2.04×10^9	0
3	8.93×10^8	6.93×10^8	6.33×10^8	6.60×10^8	6.33×10^8	0
4	5.11×10^8	3.64×10^8	2.71×10^8	2.67×10^8	2.83×10^8	0
5	5.33×10^8	7.28×10^8	2.26×10^8	2.60×10^8	2.73×10^8	0

ตารางที่ 10 แสดงปริมาณน้ำตาลที่เหลือในน้ำหมักที่มีน้ำตาลเริ่มต้นในระดับต่าง ๆ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น (%)					
	15	20	22	25	30	40
0	1.50	20.2	22.1	25.1	30.2	39.9
1	5.0	7.0	8.0	13.0	20.0	39.9
2	4.0	6.0	6.6	7.6	15.3	39.9
3	4.0	6.0	6.0	7.0	15.1	39.9
4	4.0	6.0	6.0	7.0	15.2	39.9
5	4.0	6.0	6.0	7.0	15.2	39.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13674

ตารางที่ 11 แสดงปริมาณอัลกอซอลในน้ำหมักที่มีน้ำตาลเริ่มต้นต่าง ๆ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น (%)					
	15	20	22	25	30	40
0	0	0	0	0	0	0
1	4.85	6.40	6.80	5.81	4.55	0
2	5.34	0.78	7.81	8.30	7.23	0
3	5.30	0.78	7.81	8.51	7.30	0
4	5.34	6.78	7.81	8.51	7.20	0
5	5.34 ^a	6.78 ^b	7.81 ^{cd}	8.51 ^d	7.28 ^{bc}	0

ตารางที่ 12 แสดงปริมาณกรดในน้ำหมักที่มีน้ำตาลเริ่มต้นต่าง ๆ

เวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น (%)					
	15	20	22	25	30	40
0	0.7	0.735	0.77	0.70	0.70	0.735
1	0.7	0.77	0.77	0.665	0.70	0.70
2	0.735	0.77	0.70	0.735	0.70	0.70
3	0.735	0.77	0.707	0.735	0.665	0.735
4	0.7	0.77	0.735	0.735	0.665	0.70
5	0.7	0.77	0.735	0.735	0.70	0.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบุคลากรของศูนย์เทคโนโลยีการเกษตร
 ไม่ว่าการณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังห้ามเผยแพร่เอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ตอนที่ 4 ศึกษาหาปริมาณกล้าเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่เหมาะสม

ตารางที่ 13 แสดงปริมาณเซลล์ยีสต์ในน้ำหมักที่มีเซลล์เริ่มต้นต่าง ๆ

เวลา (วัน)	ปริมาณยีสต์เริ่มต้นในระดับต่าง ๆ (% โดยปริมาตร)			
	3	5	7	10
0	4.9×10^8	5.67×10^8	6.07×10^8	6.33×10^8
1	7.0×10^8	8.86×10^8	8.93×10^8	1.10×10^9
2	1.33×10^9	1.67×10^9	1.83×10^9	1.86×10^9
3	1.6×10^9	1.91×10^9	2.16×10^9	2.3×10^9
4	6.67×10^8	7.67×10^8	6.00×10^8	7.00×10^8
5	2.60×10^8	2.63×10^8	2.70×10^8	3.13×10^8

ตารางที่ 14 แสดงปริมาณน้ำตาลในน้ำหมักที่มีเซลล์เริ่มต้นต่าง ๆ

เวลา (วัน)	ปริมาณยีสต์เริ่มต้นในระดับต่าง ๆ (% โดยปริมาตร)			
	3	5	7	10
0	20.0	20.5	20.0	20.5
1	10.0	8.5	7.6	7.0
2	7.2	6.0	6.4	5.8
3	6.1	6.0	4.0	4.0
4	6.1	5.0	4.0	4.0
5	6.1	5.0	4.0	4.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 แสดงปริมาณ กรดอินทรีย์ในน้ำหมักที่มีปริมาณยีสต์เริ่มต้นต่าง ๆ

เวลา (วัน)	ปริมาณเซลล์ยีสต์เริ่มต้น (% โดยปริมาตร)			
	3	5	7	10
0	0.67	0.77	0.70	0.67
1	0.70	0.77	0.70	0.70
2	0.70	0.77	0.70	0.70
3	0.77	0.77	0.70	0.70
4	0.70	0.70	0.70	0.67
5	0.70	0.70	0.70	0.70

ตารางที่ 16 แสดงปริมาณอัลกอฮอล์ในน้ำหมักที่มีปริมาณยีสต์เริ่มต้นต่าง ๆ

เวลา (วัน)	ปริมาณเซลล์ยีสต์เริ่มต้น (% โดยปริมาตร)			
	3	5	7	10
0	0	0	0	0
1	4.18	5.03	5.57	5.62
2	5.73	6.47	7.07	6.62
3	6.87	6.97	7.92	7.87
4	6.87	7.27	7.92	8.02
5	6.90 ^a	7.27 ^b	7.94 ^c	8.02 ^c

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 17 ผลการหมักไวน์ส้ม

ผล	วันที่	0	1	2	3	4	5
เชื้อยีสต์		5.27×10^8	7.1×10^8	8.6×10^8	9.8×10^8	8.3×10^8	6.5×10^8
กรด		0.70	0.70	0.74	0.74	0.70	0.70
น้ำตาล		25	17.00	12.25	9.00	9.00	9.00
อัลกอฮอล์		0	4.8	6.4	7.1	7.8	7.8

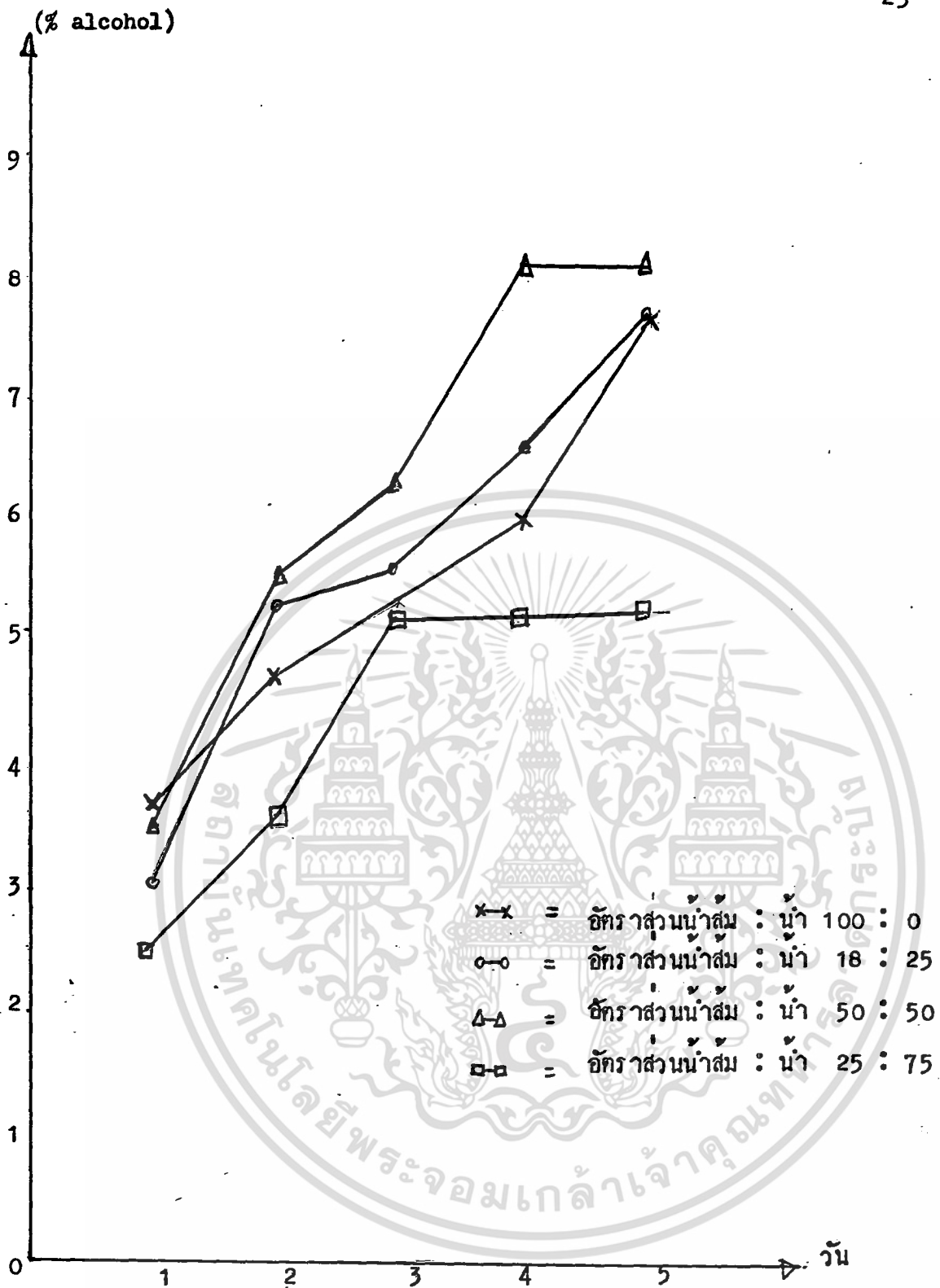
หมักที่สภาวะอัตราส่วนน้ำส้มต่อน้ำ=50;50

ปริมาณอิมโมเนียมซัลเฟต=005

ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น=25

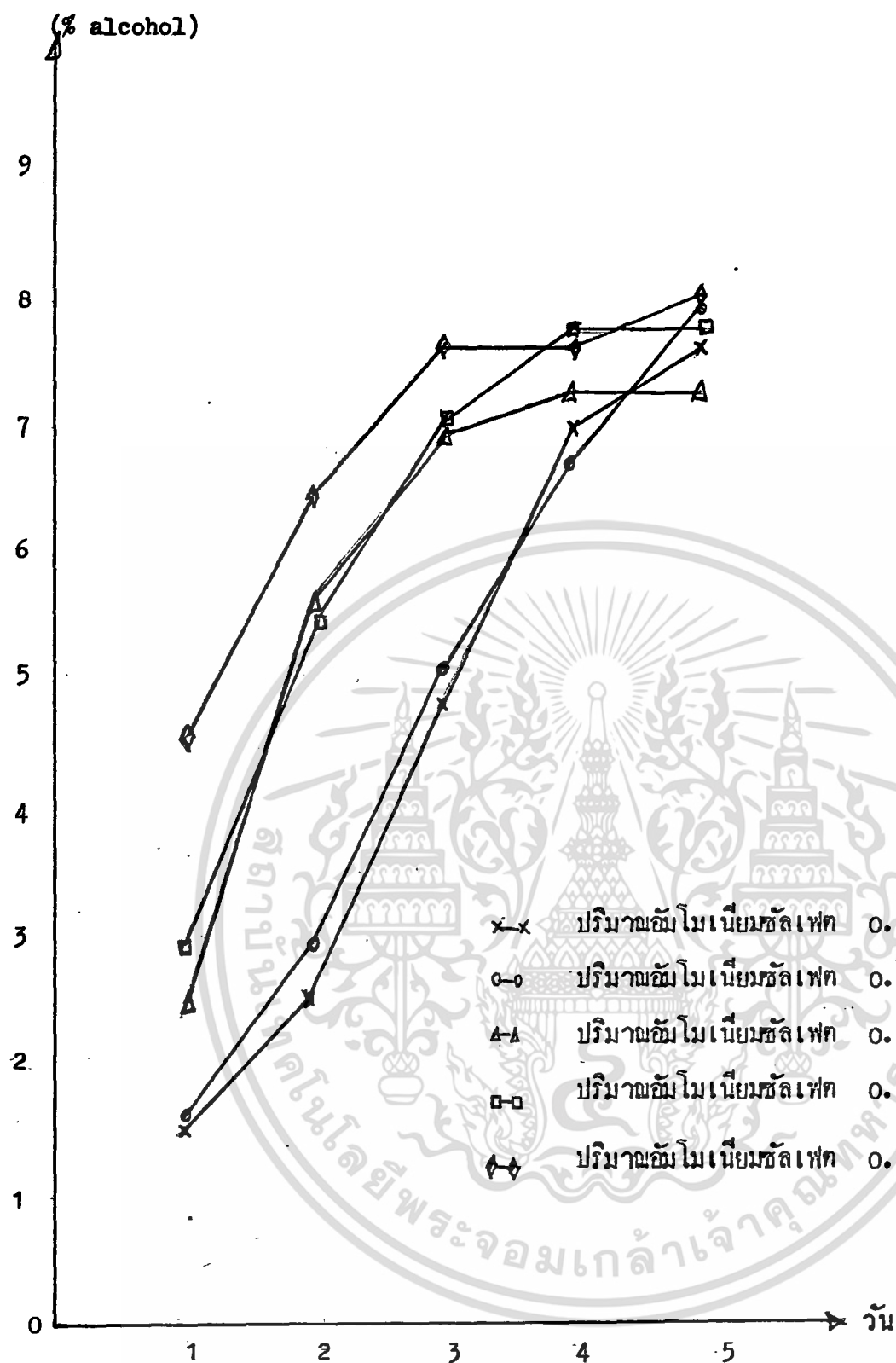
ปริมาณกลูโคสเริ่มต้น=7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



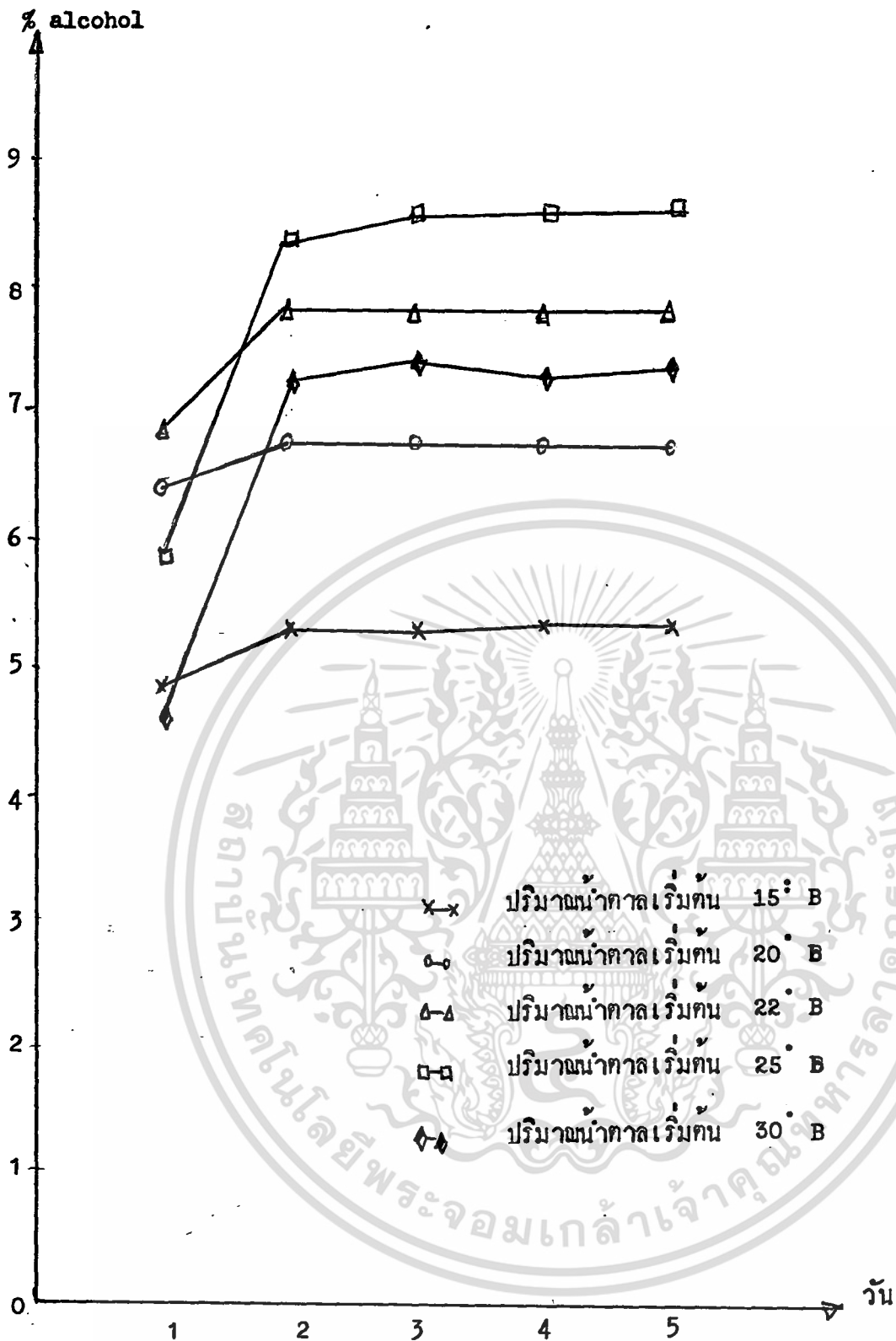
รูปที่ 3 ปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมักที่มีอัตราส่วนน้ำส้ม : น้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 ปริมาณอัลกอฮอล์ในน้ำหมักที่มีปริมาณขมิ้นโมเนียมซัลเฟต
ในระคนต่าง ๆ

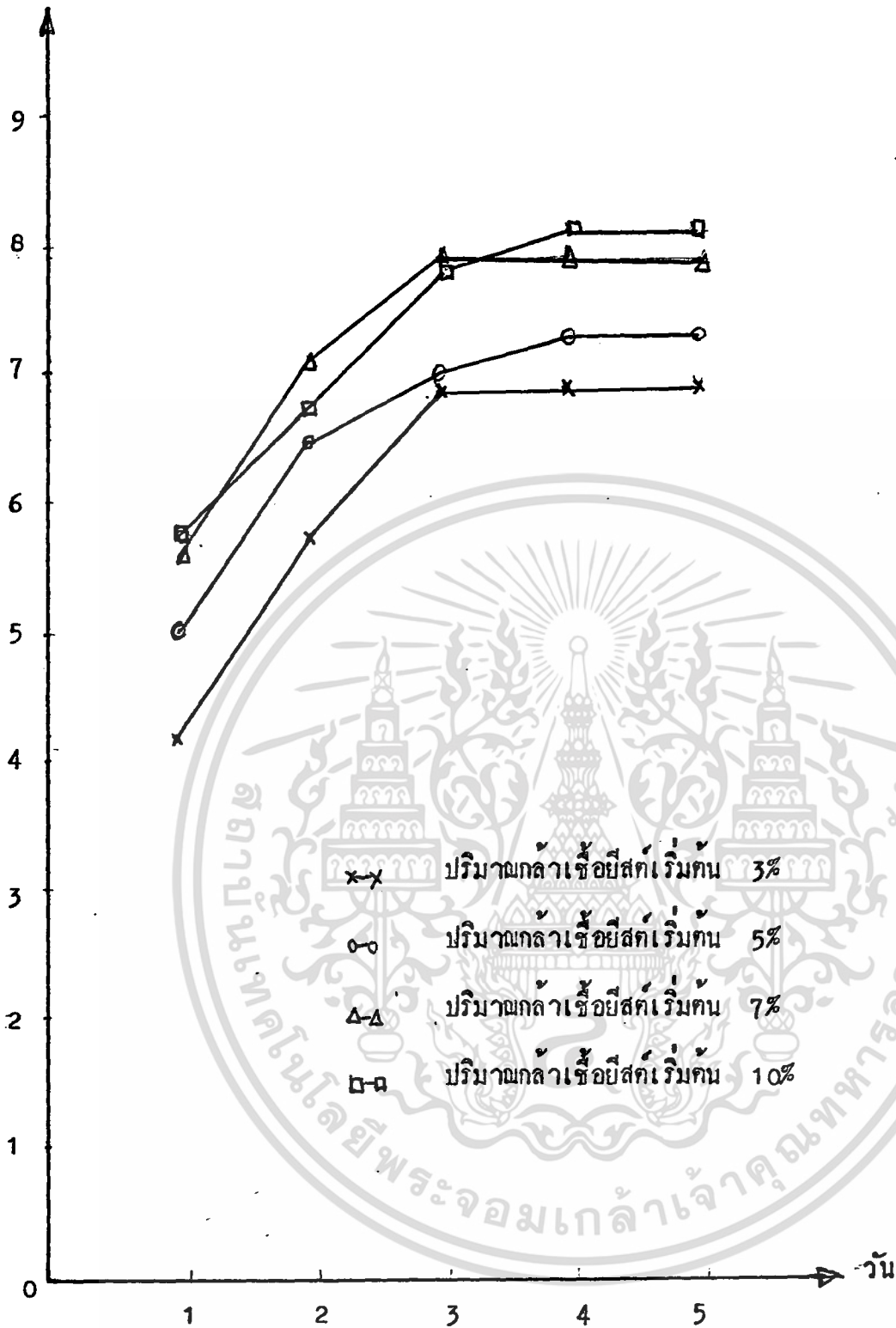
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5 ปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมักที่มีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นในระกบต่าง ๆ

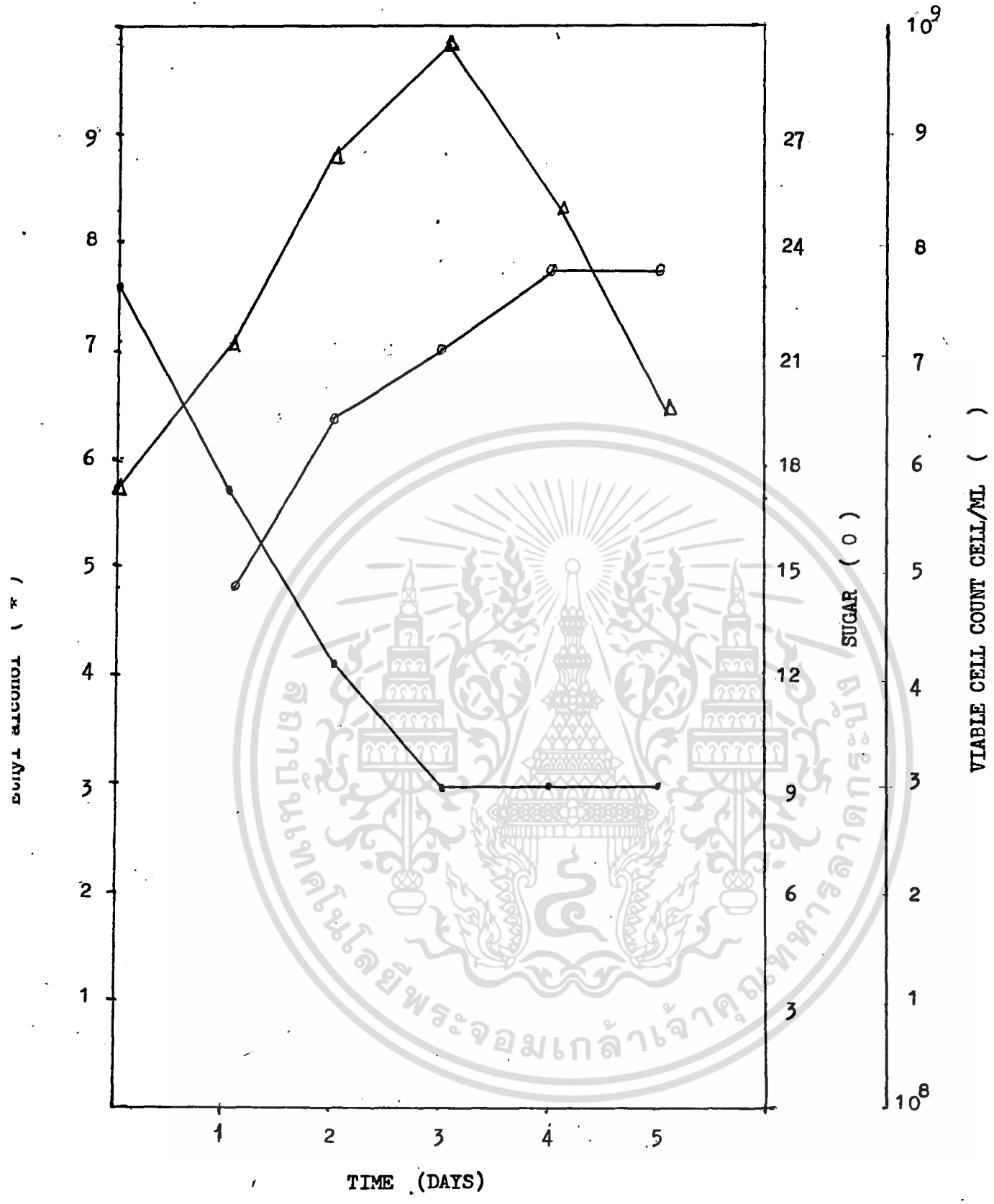
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

% alcohol



รูปที่ 6 ปริมาณอัลกอฮอล์ในน้ำหมักที่มีปริมาณกล้ำเชื้อยีสต์เริ่มต้นในระกัมต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7 ปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต น้ำตาล และอัลกอฮอล์ในน้ำหมัก
 สภาวะที่เหมาะสมในวันที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

ตอนที่ 1 จากการทดลองพบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับการหมักไวน์ส้มคือ 50 : 50 เพราะได้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด ส่วนอัตราส่วนที่ได้ประสิทธิภาพการหมักต่ำสุดคือ 25 : 75 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเจือจางมากเกินไป ทำให้วิตามินและสารอาหารบางชนิดน้อยเกินไปไม่เพียงพอต่อความต้องการของยีสต์ ทำให้ปริมาณยีสต์น้อยและส่งผลให้อัลกอฮอล์น้อยทวย

ตอนที่ 2 ปริมาณอิมโมเนี่ยมซัลเฟตที่เหมาะสมคือ 0.05 % ซึ่งทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีแอลกอฮอล์สูง จากการใช้อิมโมเนี่ยมซัลเฟตมากถึง 0.1 % นั้น ทำให้ประสิทธิภาพการหมักดีขึ้น คือได้ปริมาณแอลกอฮอล์มากขึ้นกว่าใช้อิมโมเนี่ยมซัลเฟต 0.05 % แต่จากการวิเคราะห์หาสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 % แล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นจึงคิดว่าปริมาณอิมโมเนี่ยมซัลเฟตเพียง 0.05 % ก็เพียงพอที่จะทำให้ประสิทธิภาพการหมักที่เพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากสารอาหารในน้ำผลไม้เพียงพอต่อการเจริญของยีสต์แล้ว

ตอนที่ 3 ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นที่เหมาะสมคือ 25 °B ปริมาณน้ำตาลที่สูงจะมีผลต่อการเจริญของยีสต์และยังผลให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงขึ้น ซึ่งจะไปยังยังการเจริญของยีสต์โดยอ้อม และถ้าปริมาณน้ำตาลสูงเกินไปจะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ เนื่องจากความเข้มข้นของน้ำตาลที่สูงมากจำกัด Osmotic pressure จนเป็นอันตรายต่อเซลล์ยีสต์ แต่ถ้าปริมาณน้ำตาลต่ำก็จะทำให้ได้อัลกอฮอล์น้อย

ตอนที่ 4 ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นที่เหมาะสมคือ 7 % ปริมาณเซลล์ยีสต์ที่น้อยเกินไปทำให้ประสิทธิภาพการหมักแอลกอฮอล์ต่ำ แต่ปริมาณเซลล์ยีสต์ที่มากเกินไป ทำให้การหมักเกิดอย่างรวดเร็ว ใ้ปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำ เกิดขึ้นอย่างรุนแรงอุณหภูมิในการหมักเพิ่มขึ้นรวดเร็วซึ่งเป็นอันตรายต่อยีสต์

จากการศึกษานี้พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักไวน์ส้มคืออัตราส่วนน้ำส้มต่อน้ำเท่ากับ 50:50 ปริมาณอิมโมเนียมซิลเฟต 0.05% ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 25% และปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้น 7% เมื่อหมักที่สภาวะดังกล่าวแล้วพบว่าได้ผลิตภัณฑ์ซึ่งมีปริมาณแอลกอฮอล์ 7.8% ปริมาณน้ำตาล 9% กรด 0.7%



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- เชิดชัย และคณะ. 2519. การทำไวน์จากผลไม้เมืองร้อน. วารสารอาหาร ปีที่ 8 ฉบับที่ 2 เมษายน - มิถุนายน 2529)
- เชิดชัย เชี่ยวธีรกุล. 2519. น้ำส้มสายชู : ผลผลิตพลอยได้จากไวน์. วารสารอาหาร ปีที่ 8 ฉบับที่ 3 กรกฎาคม - กันยายน 2529
- บุเรศบำรุงการ, หลวง. 2519. การทำไร้ส้ม. สมาคมพฤกษชาติแห่งประเทศไทย
- ลูกจันทร์ ภักวีพันธ์. 2522. อุตสาหกรรมอาหารหมักดอง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- ประติษฐ์ ทรัพย์วัฒนา. 2520. เอกสารไวน์. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 12 น.
- วิชัย หุทัยธนาสันต์. 2521. หลักการถนอมและแปรรูปผักและผลไม้เบื้องต้น. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- สมัยศ จรรยาวิลาส. 2520. คุณและโทษของเครื่องดื่มประเภทอัลกอฮอล์. วารสารอาหารปีที่ 9 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม 2529
- Amerine, M.A. et al., 1972. The Technology of Wine Making, 3rd.Ed. The AVI Publishing Co., Inc. Westport, Connecticut.
- Amerine, M.A. and Singleton, V.L. 1972. Wine an Introduction for Americans, University of Calofornia Press, Berkeley, and Los Angeles, U.S.A.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Paul, J.K. 1980. Large and Small Scale Ethyl Alcohol Manufacturing Processes from Agricultural Raw Materials, New Jersey : Noyes Data Corporation.

Phaff, H.J.; M.W. Miller ; and E.M. Mrak. 1978. The Life of Yeasts. 2nd Ed. Massachusetts : Harvard Univ. Press.

Reiser, C.O. 1954. Torula Yeast from Potato Starch Wastes Agr. Food Chem, 2 : 70.

Tyagi, R.D. and T.K. Ghose. 1982. Studies on Immobilized Saccharomyces cerevisiae I. Analysis of continuous rapid ethanol fermentation in immobilized cell react or Biotechnol. Bioeng. 24 : 781-795



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์และสารเคมี

1. น้ำส้ม
2. เชื้อ Saccharomyces cerevisiae AG 1
3. ขวดหมัก
4. เครื่องแก้วที่ใช้ในการวิเคราะห์
5. Potassium metabisulfite, Citric acid, Ammonium Sulphate
6. autoclave
7. PH meter
8. refractometer
9. กล้องจุลทรรศน์ และ Counting Chamber

ขั้นตอนการหมัก (วิธีการ)

batch fermentation

1. การเตรียมกล้าเชื้อ (Starter) โขยใช้น้ำส้มแล้วปรับพีเอช 3.5
น้ำตาลรีตีวซ์เริ่มต้น 10 % และเติมเกลืออัมโมเนียมซัลเฟต 0.05 %
นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่ความดัน 15
ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็น แล้วจึงถ่ายกล้า
เชื้อที่มีอายุ 18-24 ชั่วโมง เขย่าแล้วบ่มจนกระทั่งเชื่อว่าอายุ 18-
24 ชั่วโมง จึงนำไปถ่ายคอลลลงในน้ำหมัก
2. เตรียมน้ำหมักพีเอช 3.5 (ปรับพีเอชด้วยกรดซิตริก) ปรับเปอร์เซ็นต์
น้ำตาล , อัตราส่วนน้ำส้มค่อน้ำ , และเปอร์เซ็นต์อัมโมเนียมซัลเฟตตาม
เงื่อนไขที่ต้องการหา จากนั้นเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 200 พีพีเอ็ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 6 ชั่วโมงจึงเติมกล้าเชื้อ

3.หมัก : 5 วัน ทำการทดลองซ้ำ

4.ตรวจผล

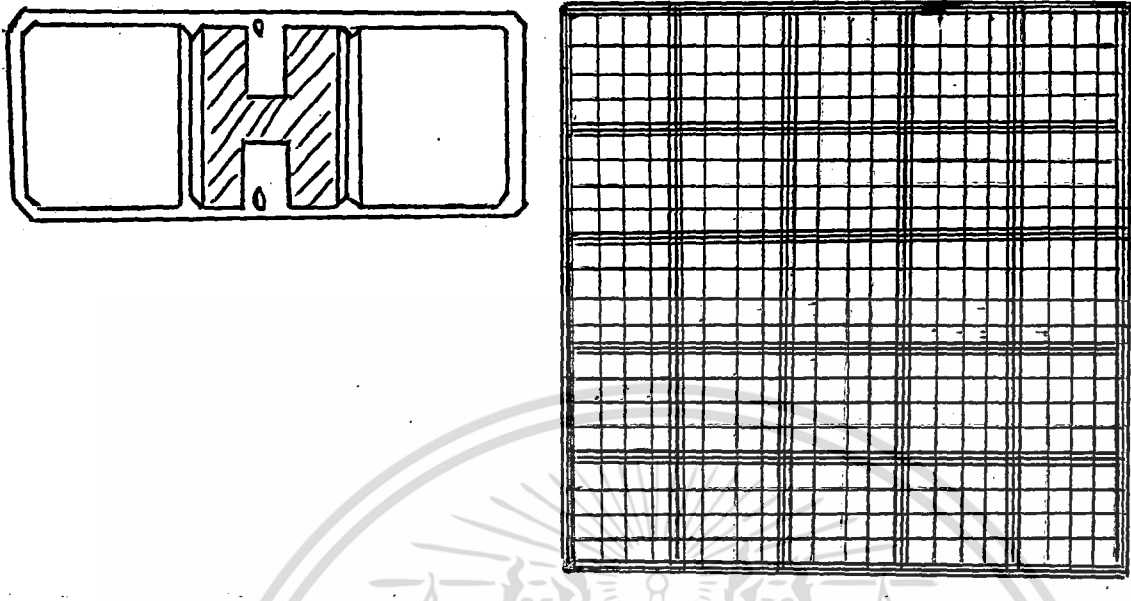
- 4.1 สังเกตการหมักในช่วง 5 วัน และลักษณะการเจริญของเชื้อ
จุลินทรีย์
- 4.2 เก็บตัวอย่าง 10 มิลลิลิตรทุก 24 ชั่วโมง ตลอดการหมัก
แล้วนำไปวิเคราะห์
- จำนวนเซลล์ด้วยวิธี Haemocytometer
 - หาเปอร์เซ็นต์น้ำตาลด้วยวิธี Lane and Eynon (AOAC ,
1975)
 - หาเปอร์เซ็นต์กรดตาม AOAC (1975)
 - หาเปอร์เซ็นต์เอธิลแอลกอฮอล์ด้วยวิธีของ Amerine and Ough
(1974)

วิธีวิเคราะห์

1. การหาจำนวนเซลล์ด้วยวิธี Haemocytometer

ใช้ Counting Chamber ซึ่งมี 25 ช่องใหญ่ 1 ช่องใหญ่มี
16 ช่องเล็ก มีความลึก 0.1 มิลลิเมตร พื้นที่ทั้งหมด 1 ตาราง
มิลลิเมตร

∴ ปริมาตรเท่ากับ 0.1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร = 0.1×10^3
ลูกบาศก์เซนติเมตร



ภาพที่ 8 Counting Chamber

การนับปริมาณเซลล์สัตว์ทำโดยหุ้ดตัวอย่างใส่ใน Counting Chamber (ถ้าตัวอย่างมีปริมาณยีสต์มากไปต้องทำการเจือจาง) แล้วนำไปตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40 เท่า การตรวจนับจะสุ่มตัวอย่างนับแบบรูปตัว X หรือแบบรูปตัว Z เพื่อไม่ให้ช่องที่นับซ้ำกัน

การคำนวณ

$$\begin{aligned}
 \text{ขนาดความลึกของ haemocytometer ที่ใช้} &= 0.1 \text{ มิลลิเมตร} \\
 \text{ขนาดพื้นที่ haemocytometer ที่ใช้} &= \frac{1}{400} \text{ ตารางมิลลิเมตร} \\
 \therefore \text{haemocytometer ที่ใช้มีปริมาตรแต่ละ field} &= \frac{1}{4} \times 10^{-6} \text{ มิลลิลิตร} \\
 \text{จำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร} &= \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่นับได้ทั้งหมด}}{\text{จำนวนที่นับ}} \times \frac{\text{dilution}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง}} \times 4 \times 10^6
 \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิธีวิเคราะห์ความเป็นกรด

สารเคมีที่ใช้ ก. NaOH 0.1 N

ข. phenolphthalein 1 %

วิธีการ

ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงในฟลasks ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นที่ต้มให้เดือดเพื่อไล่เอา CO₂ ออกแล้ว 49 มิลลิลิตร หยด phenolphthalein 1 % 3-5 หยด เป็น indicator แล้วไตเตรทกับสารละลายมาตรฐาน NaOH 0.1 N เมื่อถึง end point จะมีสีชมพูอ่อน (ทิ้งไว้ 1 นาที สีไม่เปลี่ยน)

$$\% \text{ acidity} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{Normality NaOH} \times \text{Equivalent wt of acid} \times 100}{\text{ml (or gram) of Sample} \times 1,000}$$

3. วิธีวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์อัลกอฮอล์โดยวิธีไตโครเมตออกไซดัลกอฮอล์

ในสภาพที่เป็นกรดให้กลายเป็นกรดอะซิติก ตั้งสมการ



ไตโครเมตที่เหลือจะถูกรีดิวซ์โดยวิธีไตเตรทกับเฟอร์รัสโมเนียวัลเฟต ดังนี้



สารเคมีที่ใช้

ก. สารละลายไตโครเมต

เตรียมโดยหาน้ำกลั่นประมาณ 400 มิลลิลิตร ลงใน Volumetric

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

flask ขนาด 1 ลิตร แล้วเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 325 มล. ผสมให้เข้ากัน ปล่อยให้เย็นจนกระทั่ง อุณหภูมิลดจำนวนลงเหลือประมาณ $80^{\circ} - 90^{\circ}$ ซ. เติมโพแทสเซียมไดโครเมต 33 - 768 กรัม เขย่าให้ละลายทิ้งให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่น ปรับให้ปริมาตร 1 ลิตร

ข. สารละลายเฟอร์รัสอิมโมเนียมซัลเฟต

เตรียมโดยละลายเฟอร์รัสอิมโมเนียมซัลเฟตที่น้ำ 6 โมเลกุลในน้ำกลั่น 500 มล. ใน Volumetric flask ขนาด 1 ลิตร แล้วเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 30 มล. ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร โดยใช้น้ำกลั่น

ค. สารละลาย 1, 10 - phenanthro line-ferrous sulfate indicator

เตรียมโดยเติมเฟอร์รัสซัลเฟตที่น้ำ 7 โมเลกุล 0.695 กรัมลงในน้ำกลั่น 50 มล. ลงใน Volumetric flask ขนาด 100 มล. แล้วเติม 0-phenanthroline 1.485 กรัม เขย่าให้ละลาย ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มล. โดยใช้น้ำกลั่น

วิธีการ

การกลั่นอัลกอฮอล์ใช้ microdistillation apparatus บีบเปิดสารละลายไดโครเมต 25 มล. ใส่ในหลอดขนาด 50 มล. นำไปรองรับ distillate โดยใส่ปลายเครื่องควบแน่น (condenser) ของเครื่องกลั่นจุ่มอยู่ในสารละลายไดโครเมต บีบปิดตัวอย่างที่ใช้หาปริมาณอัลกอฮอล์ 1 มล. ใส่ลงในหลอดแก้วสำหรับกลั่น ล้างให้ตัวอย่างที่ติดอยู่ลงไปหลอด

แก้วด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ มล. จนมีปริมาณน้ำ 1 ใน 3 ของปริมาตรทั้งหมดของหลอดเครื่องกลั่น ปิดท่อที่เติมตัวอย่างและปล่อยให้ไอน้ำกลั่นอัลกอฮอล์จนกระทั่งปริมาตรของของเหลวภายในฟลาสก์ที่รองรับ distillate ใกล้เคียงประมาณ 15 มล. ล้างก้านเครื่องควบแน่นด้วยน้ำกลั่น นำฟลาสก์ออกมาปิดด้วยจุกยางแล้วนำไปแช่ใน water bath อุณหภูมิ 60° ซ. นานประมาณ 20-25 นาที การออกซิไดซ์จะสมบูรณ์ ถ่ายลงในฟลาสก์ขนาด 500 มล. โดยใช้น้ำกลั่นฉีดล้างให้สะอาด ประมาณ 2-3 ครั้ง นำไปไตเตรตกับสารละลายเฟอร์รัสอิมโมเนียมซัลเฟตจนมีสีเขียว แล้วหยดสารละลาย indicator สามหยด ไตเตรตต่อจนกระทั่งถึง end point โดยสังเกตสีจะเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีน้ำตาลม่วง

วิธีการคำนวณ

$$\% \text{ อัลกอฮอล์ (มล./100 มล.)} = 25 - \left[25 \frac{A}{B} \right]$$

$$\text{หรือ } \% \text{ อัลกอฮอล์ (กรัม/100 มล.)} = 25 - \left[25 \frac{A}{B} \right] \frac{7.933}{10}$$

เมื่อ A คือ ปริมาตรของเฟอร์รัสอิมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไตเตรตกับไดโครเมตที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับอัลกอฮอล์ (มล.)

B คือ ปริมาตรของเฟอร์รัสอิมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไตเตรต blank (มล.)

4. วิธีหาค่าแลรีติวิชโดยวิธีของ Lane and Eynon

สารเคมีที่ใช้

ก. Fehling's A Solution

เตรียมละลาย $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 34.639 กรัม ด้วยน้ำกลั่น
500 มล. ใน Volumetric flask

ข. Fehling's B Solution

เตรียมโดยละลาย Sodium potassium tartrate 173
กรัม และ NaOH 50 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 500 มล. ใน
Volumetric flask

ค. methylene blue 1 %

ง. Standard glucose 0.5 %

วิธีการ

1. การ Standardization

ทำโดยนำ Fehling's A ผสมกับ Fehling's B Solution
ในปริมาณที่เท่ากันเรียกว่า Soxhlet's reagent ปิเปต
Soxhlet's reagent นี้ 10 มล. ใส่ลงในพลาสติกขนาด 250
มล. และเติม glass bead ลงไปด้วย 2-3 เม็ด เพื่อลด
การ bumping แล้วเติมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 0.5 % ลงไป
1 มล. นำไปต้มให้เดือดภายใน 3 นาที แล้วจึงไตเตรทด้วยสาร
ละลายกลูโคส 0.5 % ในขณะที่ยังต้มให้เดือด เขย่าพลาสติกตลอดเวลา
จนกระทั่งสีน้ำเงินของ Soxhlet's reagent เริ่มจางลงไปจึงเติม
สารละลาย methylene blue 1 % ลงไป 3 หยด เพื่อเป็น
การ indicator ไตเตรทต่อไปจนกระทั่งสีน้ำเงินหมดไป เวลาที่
ใช้ในการไตเตรทจนถึง end point ไม่ควรเกิน 3 นาที นับแต่
Soxhlet's solution เริ่มเดือดและสารละลายกลูโคสที่ใช้ไตเตรท
กับ Soxhlet's solution 29 มล. ไม่ควรจะมากหรือน้อยกว่า
 10 ± 0.1 มล.

2. การเตรียมตัวอย่างที่จะนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ถ้าตัวอย่างมีน้ำตาลรีดิวซ์สูง จะต้องนำมาทำให้เจือจาง จนมีน้ำตาลรีดิวซ์ไม่เกิน 0.5 % เมื่อเตรียมตัวอย่างที่เจือจางให้มีความเข้มข้นของน้ำตาลตามต้องการแล้ว ปิเปตตัวอย่าง 1 มล. ใส่ลงในฟลาสก์ที่มี Soxhlet's solution อยู่ 10 มล. นำไปโคเตรทด้วยวิธีการเดียวกับในข้อ 1 นำผลการโคเตรทมาคำนวณหา % น้ำตาลรีดิวซ์

การคำนวณ

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

เมื่อ A คือ ค่า Standardize สารละลายน้ำตาลกลูโคส 0.5 เปอร์เซ็นต์ (มล.)

B คือ ปริมาณของสารละลายกลูโคส 0.5 เปอร์เซ็นต์ที่ใช้โคเตรทกับตัวอย่าง (มล.)

ตัวอย่างการคำนวณ

ปริมาณ yeast (alcohol % วันที่ 5)

Replication	alcohol (%) Treatment				ER
	1	2	3	4	
1	6.97	7.37	7.97	8.12	30.43
2	6.82	7.17	7.92	7.92	29.83
	13.79	14.54	15.89	16.04	60.26

$$N = 8$$

$$\text{Total df} = 7$$

$$Ex = 60.26$$

$$Ex^2 = 455.7272$$

$$\text{Correction factor} = \frac{(Ex)^2}{N} = 453.90845$$

$$SST = 1.81875$$

$$SS_b = 1.76625$$

$$SS_E = 0.0525$$

$$MS_b = 0.60625$$

$$MS_E = 0.013125$$

$$F_{cal} = 46.19048$$

$$F_{0.05,3,4} = 8.59$$

$$F_{cal} > F_{table}$$

แสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Treatment	1	2	3	4
\bar{X}	6.895	7.27	7.79	8.02

$$SSR_{0.05} \quad 3.93 \quad 4.01 \quad 4.02$$

$$S_{\bar{X}} = \sqrt{\frac{0.013125}{2}} = 0.0181$$

$$LSR_{0.05} \quad 0.318 \quad 0.325 \quad 0.326$$

เรียงใหม่จาก \bar{X} น้อยไป \bar{X} มาก

Treatment	1	2	3	4
\bar{X}	6.895	7.27	7.79	8.02

$$t = 4 \text{ IV} - \text{I} = 8.02 - 6.895 = 1.125 > 0.326 \quad \text{แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ}$$

$$\cdot \text{IV} - \text{II} = 0.75 > 0.325 \quad \text{แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ}$$

$$\cdot \text{IV} - \text{III} = 0.23 < 0.318 \quad \text{ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ}$$

$$t = 3 \text{ III} - \text{I} = 0.895 > 0.325 \quad \text{แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ}$$

$$\cdot \text{III} - \text{II} = 0.52 > 0.318 \quad \text{แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ}$$

$$t = 2 \text{ II} - \text{I} = 0.375 > 0.318 \quad \text{แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ}$$

ห้ระดัความเชื่อมั้ 95 % $\frac{1}{a} \quad \frac{2}{b} \quad \frac{3}{c} \quad \frac{4}{4^c}$

$$T_1 = \text{yeast } 3 \%$$

$$T_2 = \text{yeast } 5 \%$$

$$T_3 = \text{yeast } 7 \%$$

$$T_4 \text{ ั้งสัน} = \text{yeast } 10 \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด ๆ ั้งสัน อีกทั้งห้ามเผยแพร่ต่อสาธารณะ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้