บทที่ 3

การทดลอง

วัตถุดิบในการผลิตไวน์หม่อน

1. ผลหม่อน (*Morus alba L.*) ได้รับความอนุเคราะห์จากงานหม่อนไหม สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ผลหม่อนที่ใช้ในการศึกษาคือ พันธุ์จีน ผลสุกที่ผ่านการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -25 ± (-2) องศาเซลเซียส ก่อนใช้นำมาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง (27-32 องศาเซลเซียส)

2. diammonium hydrogen phosphate	A.R. grade (Merck)
3. citric acid	Food grade
4. potassium metabisulfite	Food grade
5. potassium sorbate	Food grade
6. ascorbic acid	Food grade

สารเคมี

1. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดและกรดระเหย

- sodium hydroxide	A.R. grade (Merck)
- phenolphthalein	A.R. grade (Riedel-de Haen)
- hydrogen peroxide	A.R. grade (Carlo Erba)
- potassium hydropgen phthalate	A.R. grade (Merck)

2. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

- potassium sodium tartrate	A.R. grade (J.T. Baker)
- sodium carbonate	A.R. grade (Merck)
- copper sulfate	A.R. grade (Merck)
- sodium hydrogen carbonate	A.R. grade (Merck)
- potassium iodate	A.R. grade (Carlo Erba)
- potassium iodide	A.R. grade (J.T. Baker)
- sodium thiosulfate	A.R. grade (Merck)
- glucose	A.R. grade (Merck)
- starch soluble	A.R. grade (BDH)
- sulfuric acid	A.R. grade (Merck)
- potassium oxalate	A.R. grade (J.T. Baker)

3. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานิน

- potassium chloride	A.R. grade (Riedel-de Haen)
- hydrochloric acid	A.R. grade (Merck)
- sodium acetate	A.R. grade (J.T. Baker)
- methyl alcohol	A.R. grade (J.T. Baker)
- acetic acid	A.R. grade (J.T. Baker)

4. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณเอสเทอร์ (ในรูปของเอทิลอะซีเตท)

- sodium hydroxide	A.R. grade (Merck)
-sulfuric acid	A.R. grade (Merck)

5. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณอะเซทัลดีไฮด์

- starch soluble	A.R. grade (BDH)
- iodine	A.R. grade (Carlo Erba)
- potassium iodide	A.R. grade (J.T. Baker)
- tri-sodium phosphate	A.R. grade (Merck)
- hydrochloric acid	A.R. grade (Merck)
- di-sodium ethylene diamine tetraacetic acid	A.R. grade (Merck)
- sodium hydroxide	A.R. grade (Merck)
- boric acid	A.R. grade (Merck)
- sodium thiosulfate	A.R. grade (Merck)

6. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์

- methyl alcohol	A.R. grade (J.T. Baker)
- ethyl alcohol	A.R. grade (J.T. Baker)
- deionized water	

7. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์

- phosphoric acid	A.R. grade (J.T. Baker)
- hydrogen peroxide	A.R. grade (J.T. Baker)
- methylene blue	A.R. grade (Merck)
- methyl red	A.R. grade (Merck)
- potassium hydrogen phthalate	A.R. grade (Merck)

8. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิค

- Folin-Ciocalteu reagent	A.R. grade (Merck)
- sodium carbonate	A.R. grade (Merck)
- gallic acid	A.R. grade (Sigma)

9. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ค่าสี (Hue)

- hydrochloric acid	A.R. grade (Merck)

10. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณเส้นใย (crude fiber)

- sodium hydroxide	A.R. grade (Merck)
- sulfuric acid	A.R. grade (Merck)
- ethyl alcohol anhydrous	A.R. grade (J.T. Baker)

11. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณไขมัน

- petroleum ether	A.R. grade (J.T. Baker)

12. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

- sulfuric acid	A.R. grade (Merck)
- boric acid	A.R. grade (Merck)
- sodium hydroxide	A.R. grade (Merck)
- ethyl alcohol	A.R. grade (J.T. Baker)
- bromocresol green	A.R. grade (J.T. Baker)
- methyl red	A.R. grade (Merck)
- sodium sulfate	A.R. grade (Carlo Erba)
- copper sulfate	A.R. grade (Merck)

13. สารเคมีที่ใช้วัดกิจกรรมของเอนไซม์ pectin esterase

- sodium hydroxide	A.R. grade (Merck)
- pectin powder	A.R. grade (Sigma)
- methyl red	A.R. grdae(Merck)

14. สารเคมีที่ใช้วัดกิจกรรมของเอนไซม์ polygalacturonase

- polygalacturonic acid	A.R. grade (Fluka)
- sodium carbonate	A.R. grade (Merck)
- iodine	A.R. grade (Merck)
- sulfuric acid	A.R. grade (J.T. Baker)
- sodium thiosulfate	A.R. grade (Merck)
- D (+)- galacturonic acid	A.R. grade (Fluka)

15. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณเพคติน (ในรูปแคลเซียมเพคเตท)

- glacial acetic acid	A.R. grade (J.T. Baker)
- ethyl alcohol	A.R. grade (J.T. Baker)
- calcium chloride	A.R. grade (Merck)
- hydrochloric acid	A.R. grade (Merck)

เชื้อยีสต์

เชื้อยีสต์ *Saccharomyces bayanus* ที่ใช้ในการศึกษาอยู่ในลักษณะเป็นผง (active dried yeast) Strain No. M146 ผลิตโดย Lallemand Australia PTY. Ltd., North Adelaide South Australia ซึ่งได้แยกเชื้อบริสุทธิ์จาก *S. bayanus* จาก Department of Food Technology, Massey University, Palmerston North ประเทศนิวซีแลนด์ มีชื่อทางการค้า Enoferm M1 เจริญที่ช่วงอุณหภูมิ 12-30 องศาเซลเซียส สร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ค่อนข้างต่ำ รวมตัวกันตกตะกอนได้ง่ายหลังการหมัก ไม่ทำให้ไวน์ขุ่นมาก ทนแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 16 โดยปริมาตร ไวน์ที่ได้มีปริมาณกรดระเหยโดยเฉพาะกรดอะซีติกต่ำประมาณ 0.2-0.4 กรัม/ลิตร และสร้างกลิ่น (aroma) ที่ดีได้สูง เชื้อยีสต์ที่ใช้ได้รับความอนุเคราะห์จากงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง

เอนไซม์เพคติเนส (pectinase enzyme)

เอนไซม์เพคติเนสที่ใช้ในการศึกษาเป็น commercial grade ที่ฉลากระบุว่ามี active pectolytic enzyme และ hemicellulytic activities อยู่สูง เหมาะกับการย่อยสลายผนังเซลล์พืช และ mash treatment มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ polygalacturonase (PG) 26,000 PG/ml (ความสามารถของ PG ในการลดความหนืดของเพคตินลงได้ร้อยละ 50) ที่ pH 3.5 มีชื่อทางการค้า Pectinex Ultra SP-L ผลิตโดย Novo Nordisk Ferment Ltd. ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ เอนไซม์อยู่ในลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาล มีกลิ่นหมักเล็กน้อย มีค่า pH 4.5 ผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus niger*

อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมและวิเคราะห์คุณภาพผลหม่อนและไวน์หม่อน

1. ตู้อบลมร้อน (hot air oven; Shel Lab 1350 FX)
2. ชุดเครื่องวิเคราะห์โปรตีน (Semi Kjeldahl nitrogen analysis; Gerhardt)
3. ตู้ดูดควัน (hood)
4. ชุดวิเคราะห์ไขมัน (Soxhlet extraction apparatus; Gerhardt)
5. โถดูดความชื้น (desiccator; Glaswerk Wertheim)
6. เตาเผาเถ้า (muffle furnace; Sybron, Type 1400)
7. hot plate (E.G.O., Germany)

8. vortex mixer (Scientific Industries, G 560E)
9. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectronic 21; Milton Roy Co.)
10. pH meter (Hanna 8520)
11. hand refractometer 0-32 ° Brix (Atago, 2111-W03)
12. เครื่องชั่งหยาบ (Sartorius, B3100S)
13. เครื่องชั่งละเอียด (Sartorius, A200S)
14. เครื่องวัดสี Minolta CR-300 series Chroma meters
15. ชุดเครื่องกลั่นกรดระเหย (Pyrex, USA)
16. ชุดเครื่องกลั่น (Pyrex, USA)
17. gas chromatography (Shimadzu, 14A)
18. vinometer
19. ชุดเครื่องกลั่นแบบรีฟลักซ์ (reflux distillator, Gerhardt)
20. refrigerated centrifuge
21. ห้องเย็นอุณหภูมิ 5 ± 2 องศาเซลเซียส
22. ห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส
23. ถังพลาสติกใสขนาด 20 ลิตร

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย

1. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตไวน์หม่อน

ผลหม่อนที่ใช้ในการศึกษาเป็นผลหม่อนสุกพันธุ์จีน ผลสีม่วง อายุประมาณ 50-60 วัน ที่ปลูก ณ สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง นำมาตัดแยกส่วนก้านออก เก็บรวบรวมโดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -25±(-2) องศาเซลเซียส ละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพต่างๆ

1.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลหม่อน ได้แก่

- ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้าทั้งหมด เส้นใยอาหาร และเพคติน (A.O.A.C.,1995) วิธีวิเคราะห์ตามตารางภาคผนวก ก.1-ก.6
- ปริมาณคาร์โบไฮเดรท คำนวณโดยคิดเทียบองค์ประกอบทั้งหมดเป็น 100 แล้วลบด้วยค่าความชื้น ไขมัน เถ้าทั้งหมด และเส้นใยอาหาร
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (total soluble solid, °Brix) โดยใช้ hand refractometer (Amerine and Ough, 1980)
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธีของ Shaffer & Somogyi (A.O.A.C., 1995) วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก.7

- วัดค่า pH โดยใช้ pH meter
- ปริมาณกรดทั้งหมด(ในรูปกรดซิตริก) โดยไตเตรทกับโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 N วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก.8
- สารประกอบฟีนอลิค (phenolic compounds) (Zoecklein et al., 1995) วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก. 9

1.2 วิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานินในผลหม่อน

นำผลหม่อนมาแยกส่วนก้านออกแล้ว 50 กรัม สกัดด้วยสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ที่มีกรดไฮโดรคลอริกอยู่ร้อยละ 1 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปั่นใน blender เป็นเวลา 5 นาที กรองแยกสารละลายที่ได้ แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานินโดยใช้ spectronic 21 ดัดแปลงวิธีของ Fuleki และ Francis (1968) และ Somers และ Evans (1977) วิธีวิเคราะห์อยู่ในภาคผนวก ก. 10

ทดลอง 4 ซ้ำ

2. วัดกิจกรรมของเอนไซม์ของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตไวน์หม่อน

1.1 วัดกิจกรรมของเอนไซม์ pectinesterase ในผลหม่อน และเอนไซม์ pectinase (Kertesz, 1951; Rouse and Atkins, 1955) วิธีวัดตามภาคผนวก ก.11

1.2 วัดกิจกรรมของเอนไซม์ polygalacturonase ในผลหม่อน และเอนไซม์ pectinase (Jansen and MacDonnell, 1945; Kertesz, 1951) วิธีวัดตามภาคผนวก ก.12

ทดลอง 4 ซ้ำ

3. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์และคุณภาพของไวน์หม่อน

การผลิตไวน์หม่อนมีขั้นตอนการเตรียมน้ำหมัก การเตรียมเชื้อยีสต์ และการหมักดังนี้

การเตรียมน้ำหมัก : นำผลหม่อนแช่แข็งที่ผ่านการละลายน้ำแข็ง ที่อุณหภูมิ 27-32 องศาเซลเซียสแล้ว มาบีบผสมกับน้ำสะอาดในอัตราส่วน 1 ต่อ 3 ในช่วงบีบผสมเติมกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) และโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมโดยน้ำหนัก ตามลำดับ บีบผสมน้ำหมักให้เข้ากันด้วยมือ ปรับน้ำหมักให้มีปริมาณน้ำตาลปริมาณ 180 กรัมต่อกิโลกรัมโดยน้ำหนักด้วยน้ำตาลทราย เติมไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 110 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมโดยน้ำหนักเพื่อเพิ่มสารอาหารให้แก่ยีสต์ แล้วปรับปริมาณกรดตามปัจจัยที่ศึกษา โดยแปรปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาดังนี้

3.1 ปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา

3.1.1 ปริมาณกรดเริ่มต้นของน้ำหมักโดยปรับด้วยกรดซิตริก 2 ระดับ คือ

- ร้อยละ 0.4 โดยน้ำหนัก
- ร้อยละ 0.6 โดยน้ำหนัก

3.1.2 ขั้นตอนการเติมเพคติเนสเอนไซม์ มี 2 ขั้นตอน คือ

- เติมในน้ำหมัก
- เติมหลังการหมัก (ในไวน์ใหม่)

3.1.3 ปริมาณเพคติเนสเอนไซม์ที่เติมมี 3 ระดับ คือ

- 110 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมโดยน้ำหนักของน้ำหมักหรือไวน์
- 130 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมโดยน้ำหนักของน้ำหมักหรือไวน์
- 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมโดยน้ำหนักของน้ำหมักหรือไวน์

ได้ทรีตเมนต์ (treatment) ทั้งหมด 12 ทรีตเมนต์ ดังแสดงในตารางที่ 3.1 วางแผนการทดลองแบบ 2x2x3 Factorial ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (Cochran and Cox, 1957)

ตารางที่ 3.1 ทรีตเมนต์ที่ได้จากการแปรปริมาณกรดเริ่มต้น (ในรูปกรดซิตริก) ขั้นตอนการเติมเพคติเนสเอนไซม์ และปริมาณเอนไซม์ที่เติม

ปริมาณกรดเริ่มต้น (%) (ในรูปกรดซิตริก)	ขั้นตอนการเติมเอนไซม์	ปริมาณเอนไซม์ (มก./กิโลกรัม)	ทรีตเมนต์
0.4	MUST [1]	110	0.4-M-110
		130	0.4-M-130
		150	0.4-M-150
	YOUNG WINE [2]	110	0.4-W-110
		130	0.4-W-130
		150	0.4-W-150
0.6	MUST [1]	110	0.6-M-110
		130	0.6-M-130
		150	0.6-M-150
	YOUNG WINE [2]	110	0.6-W-110
		130	0.6-W-130
		150	0.6-W-150

[1] MUST : เติมเพคติเนสเอนไซม์ในน้ำหมัก (วันที่ 0 ของการหมัก)

[2] YOUNG WINE : เติมเพคติเนสเอนไซม์หลังหมัก หรือในไวน์หม่อนใหม่หลังหมัก

3.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพบางประการในน้ำหมัก

นำน้ำหมักที่ปรับปริมาณสารอาหารแล้วใส่ลงในถังพลาสติกใส (PET) ขนาด 20 ลิตร สำหรับหมัก (ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยน้ำเดือดแล้ว) ปริมาณ 18 กิโลกรัม เติมโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมโดยน้ำหนักของน้ำหมัก เพื่อทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำหมัก ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมง วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพบางประการของน้ำหมักเริ่มต้น

- ปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดซิตริก) โดยไตเตรทกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 N วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก.8
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) โดยใช้ hand refractometer (Amerine and Ough, 1980)
- วัดค่า pH โดยใช้ pH meter
- ปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์โดยใช้ gas chromatography (GC) (Lee, Acree and Butts, 1975) วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก. 13
- ปริมาณแอนโธไซยานิน ดัดแปลงวิธีของ Fuleki และ Francis (1968) และ Somers และ Evans (1977) วิธีวิเคราะห์อยู่ในภาคผนวก ก.10
- สารประกอบฟีนอลิค (phenolic compounds) (Zoecklein et al., 1995) วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก.9
- ปริมาณกรดระเหย (A.O.A.C.,1995; Zoecklein et al., 1995) วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก. 14
- ปริมาณอะเซทัลดีไฮด์ (A.O.A.C.,1995; Zoecklein et al., 1995) วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวกที่ ก.15
- ปริมาณเอสเทอร์ (ในรูปเอทิลอะซีเตท) (A.O.A.C.,1995) วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก. 16
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธีของ Shaffer & Somogyi (A.O.A.C., 1995) วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก.7
- ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้ vinometer
- วัดค่าสี (Hue) (Zoecklein et al., 1995) วิธีวัดตามภาคผนวก ก. 17
- วัดความใส (% Transmittance) วิธีวัดตามภาคผนวก ก. 18 (Endo, 1965)
- วัดกิจกรรมของเอนไซม์ pectinesterase และ polygalacturonase (Jansen and MacDonnell, 1945; Kertesz, 1951; Rouse and Atkins, 1955) วิธีวัดตามภาคผนวก ก.11 และ ก. 12

ทดลอง 4 ซ้ำ

การเตรียมเชื้อยีสต์ในการหมัก : เชื้อยีสต์ผงสำเร็จรูปถูกเตรียมเป็นกล้าเชื้อ โดยแช่ยีสต์ผง (*S. bayanus*) 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมโดยน้ำหนักของน้ำหมักในน้ำอุ่นอุณหภูมิประมาณ 40 องศาเซลเซียส ประมาณ 10 เท่า ทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที คนและทิ้งไว้อีก 20 นาที กล้าเชื้อยีสต์ที่เตรียมมีจำนวนเซลล์ยีสต์อยู่ 1.95 x 10^9 เซลล์/มิลลิลิตร)

การหมักไวน์หม่อน (ดังรูปที่ 3.1-1 และ 3.1-2) : เติมเชื้อยีสต์ลงในน้ำหมัก เติมเพคติเนสเอนไซม์ในน้ำหมักในทรีตเมนต์ตามปัจจัยที่ศึกษาในข้อ 3.1.2 และ 3.1.3 ปิดฝาถังหมักด้วย air lock หมักที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน หรือจนสิ้นสุดการหมัก (มีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือต่ำสุดและมีแอลกอฮอล์สูงสุด) ในระหว่างการหมักติดตามการเปลี่ยนแปลงทุก 7 วัน โดยการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพดังข้อ 3.3 siphon ไวน์ส่วนที่ใส (เพื่อแยกตะกอนไวน์) ไปใส่ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตรใบใหม่ (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยน้ำเดือดแล้ว) เติมโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมโดยน้ำหนักไวน์หม่อนเพื่อหยุดกระบวนการหมัก วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของไวน์หม่อนหลังการหมักดังข้อ 3.4 เติมเพคติเนสเอนไซม์ในไวน์หม่อนในทรีตเมนต์ตามปัจจัยที่ศึกษาในข้อ 3.1.2 และ 3.1.3 เก็บบ่มไวน์หม่อนที่ได้ที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส นาน 12 สัปดาห์ ในระหว่างการบ่มเก็บตัวอย่างไวน์หม่อนวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และกายภาพบางประการทุก 3 สัปดาห์ (ดังในข้อ 3.5) และดูดเปลี่ยนไวน์หม่อนส่วนที่ใสใส่ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตรใบใหม่ (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยน้ำเดือดแล้ว) ทุก 4 สัปดาห์ เพื่อแยกตะกอนไวน์ ทดลองหมักและบ่มไวน์หม่อน 2 ซ้ำ

3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพในระหว่างการหมักไวน์หม่อน ทุก 7 วัน คือ

- ปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดซิตริก) โดยไตเตรทกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 N วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก.8
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (total soluble solid) โดยใช้ hand refractometer (Amerine and Ough, 1980)
- วัดค่า pH โดยใช้ pH meter
- ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้ vinometer

3.4 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพบางประการของไวน์หม่อนหลังการหมัก

- วิเคราะห์ตามข้อ 3.2 ยกเว้นกิจกรรมของเอนไซม์ pectinesterase และ polygalacturonase

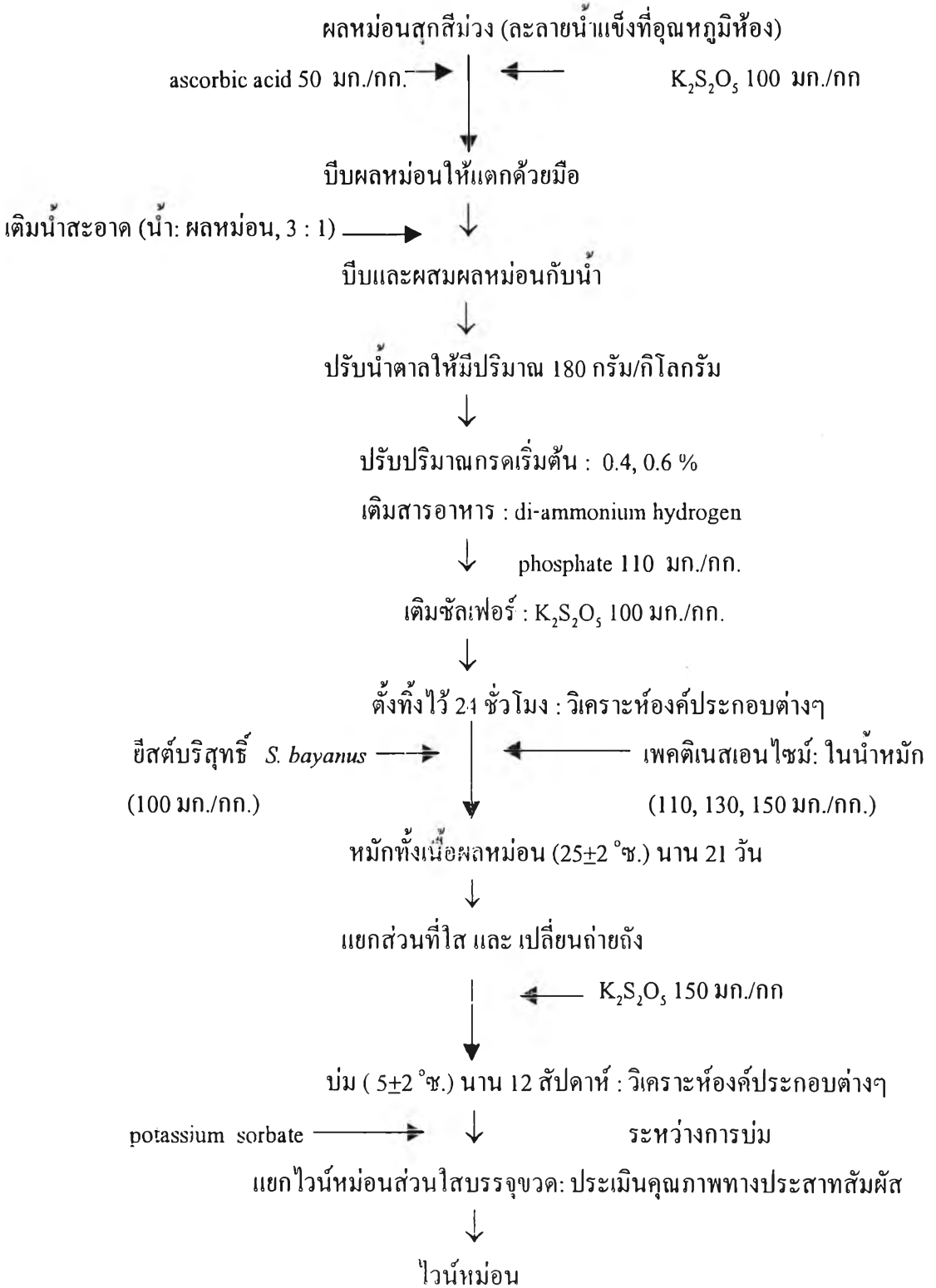
3.5 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และกายภาพบางประการระหว่างการบ่มไวน์หม่อน ทุก 3 สัปดาห์

- วิเคราะห์ตามข้อ 3.4
- วิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ในรูปของ free, bound และ total sulfur dioxide (Patrick, Ewart and Sitters, 1993) วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ก.19

วางแผนการทดลองแบบ 2x2x3 Factorial ทดลอง 2 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำของการทดลอง วิเคราะห์ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Cochran and Cox, 1957)

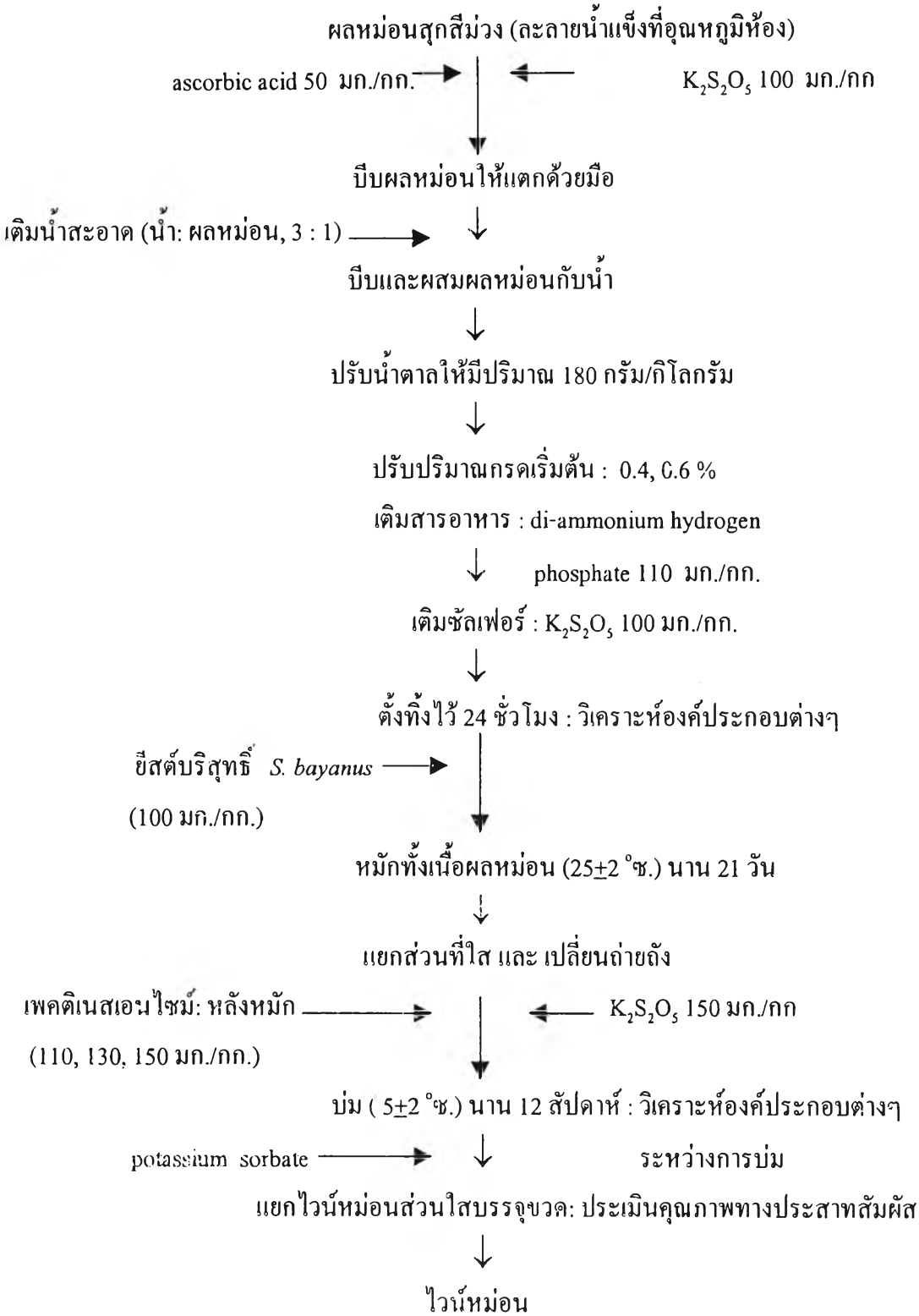
3.6 ประเมินผลทางประสาทสัมผัสของไวน์หม่อนหลังการบ่ม 12 และ 24 สัปดาห์โดยการให้คะแนนคุณภาพแบบ Numerical scoring ดัดแปลงวิธีการให้คะแนนของ Margalit (1990) โดยมีคะแนนเต็มทั้งหมด 20 คะแนน แบ่งเป็นคุณภาพในด้านลักษณะปรากฏ (สี, body ของไวน์ และความใส) 3 คะแนน ด้านกลิ่น 6 คะแนน ด้านรสชาติ 6 คะแนน ด้านกลิ่นและรสที่ค้างในปากหลังชิม (aftertaste) 3 คะแนน และ คุณภาพโดยรวม 2 คะแนน (ภาคผนวก ข) ใช้ผู้ทดสอบชิมที่คุ้นเคยและกึ่งผ่านการฝึกฝนที่มีอายุระหว่าง 27-45 ปี จำนวน 10 คน วางแผนการทดลองแบบ 2x2x3 Factorial ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Cochran and Cox, 1957)

ก่อนบรรจุไวน์หม่อน 1 สัปดาห์ เติมโปแตสเซียมซอร์เบท (potassium sorbate) ในไวน์ทุกทรีตเมนต์เพื่อทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณที่เติมขึ้นกับปริมาณแอลกอฮอล์ ดังตารางที่ 2.2 แล้วนำไวน์หม่อนมาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส



รูปที่ 3.1-1 กระบวนการทำไวน์หม่อนที่เติมเพคติเนสเอนไซม์ในน้ำหมัก ดัดแปลงจาก ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน (2542)

หมายเหตุ: หลังการบ่มไวน์หม่อน 12 สัปดาห์ นำไวน์หม่อนไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส เพิ่มอีกเป็นระยะเวลานาน 24 สัปดาห์ แล้วจึงนำไวน์หม่อนมาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเหมือนไวน์หม่อนที่ผ่านการบ่มนาน 12 สัปดาห์



รูปที่ 3.1-2 กระบวนการทำไวน์หม่อนที่เติมเพคติเนสเอนไซม์หลังหมัก ดัดแปลงจาก ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน (2542)

หมายเหตุ: หลังการบ่มไวน์หม่อน 12 สัปดาห์ นำไวน์หม่อนไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส เพิ่มอีกเป็นระยะเวลานาน 24 สัปดาห์ แล้วจึงนำไวน์หม่อนมาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเหมือนไวน์หม่อนที่ผ่านการบ่มนาน 12 สัปดาห์