บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต

1.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำผึ้ง

น้ำผึ้งที่ใช้เป็นวัตถุดิบเป็นน้ำผึ้งสาบเสือ (*Eupatorium odoratum* Linn.) จากสุภาฟาร์มผึ้ง ที่ อ.แม่ริมจ. เชียงใหม่ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส การวิเคราะห์น้ำผึ้งได้ผลการทดลอง ดังตารางที่ 4.1 โดยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีปริมาณ 72.0 องศาบริกซ์ ซึ่งตัวอย่างน้ำผึ้งที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณน้ำตาลอินเวิร์ตร้อยละ 69.1 ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานของ Codex Alimentarius Commission (1969) และ มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำผึ้ง(2536)ที่กำหนดให้ไม่ต่ำกว่าร้อยละ65 เพราะน้ำผึ้งที่มีปริมาณน้ำตาลอินเวิร์ตต่ำกว่าร้อยละ 65 และมีความชื้นสูง สามารถบ่งบอกถึงการเก็บเกี่ยวน้ำผึ้งก่อนที่จะถึงระยะเวลาที่สมควรจะกระทำ หรือหากมีน้ำตาลชนิดอื่นปริมาณต่ำและซูโครสสูงสามารถบ่งบอกถึงการปลอมปนของน้ำผึ้งที่มีการเติมน้ำตาลทราย(ซูโครส)ลงในน้ำผึ้ง ในมาตรฐานของ Codex Alimentarius Commission (1969) และ มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำผึ้ง(2536) สำหรับน้ำผึ้งที่มีคุณภาพดีควรมีน้ำตาลซูโครสไม่เกินร้อยละ 5 น้ำผึ้งสาบเสือในงานวิจัยมีน้ำตาลซูโครสปริมาณร้อยละ 3.83 เพราะในการเลี้ยงผึ้งจะมีการให้น้ำตาลทรายเป็นอาหารกับผึ้งในบางครั้งแต่ไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดไว้คือ ร้อยละ 5 พีเอช (pH) ของน้ำผึ้งสาบเสือมีค่า เท่ากับ 3.99 ซึ่งค่อนข้างเป็นกรดทำให้รสชาติของน้ำผึ้งมีรสหวานปนเปรี้ยวเล็กน้อย ปริมาณเถ้าทั้งหมดซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงปริมาณแร่ธาตุในน้ำผึ้งมีค่าเท่ากับร้อยละ 0.22 ต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ร้อยละ 0.6 ไนโตรเจนในน้ำผึ้งมีปริมาณร้อยละ 0.087 ซึ่งไม่เพียงพอที่จะเป็นแหล่งไนโตรเจนให้กับยีสต์ จึงมีการเติมไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (DAP) ลงในน้ำหมักเพื่อเป็นแหล่งอาหารให้กับยีสต์ในการเจริญเติบโตระหว่างการหมัก ความชื้นในน้ำผึ้งมีปริมาณร้อยละ 19.78 ซึ่งไม่สูงเกินมาตรฐาน ถ้าปริมาณความชื้นสูงสามารถบ่งบอกถึงการปลอมปนของน้ำผึ้งที่มีการนำน้ำมาเจือจางหรือการเก็บเกี่ยวก่อนกำหนด กรดในน้ำผึ้ง(คิดในรูปกรดซิตริก)มีปริมาณร้อยละ 0.063 ในงานวิจัยต้องการปริมาณกรดในน้ำหมักร้อยละ 0.5 และ 0.6 ดังนั้นค่าความเป็นกรดในน้ำผึ้งจึงมีน้อยเกินไปที่จะใช้ในการเตรียมน้ำหมัก ต้องมีการเติมกรดลงไปในน้ำหมักเพิ่มขึ้น ในงานวิจัยนี้จะใช้น้ำมะเกี๋ยงเข้มข้นเป็นตัวปรับกรดในน้ำหมัก เพราะมีปริมาณกรดสูงถึงร้อยละ 2.16 (ตารางที่ 4.2)

1.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลมะเกี๋ยง

ผลมะเกี๋ยง (*Cleistocalyx operculatus* var. *paniala*) ได้รับความอนุเคราะห์จากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมและใช้ประโยชน์จากมะเกี๋ยง สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีราชมงคลจังหวัดลำปาง ผลมะเกี๋ยงที่ใช้นำมาจากหลายสายต้นรวมกันเก็บที่อุณหภูมิ -24 องศาเซลเซียส ส่วนที่นำมาวิเคราะห์ในส่วนเนื้อมะเกี๋ยง ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.2 ค่าที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับคุณค่าทางอาหารของลูกหว้า (*Cleistocalyx operculatus* var. *operculatus*) (ตารางที่ ข.1) ซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกับมะเกี๋ยง มะเกี๋ยงมีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 14.76 ปริมาณโปรตีนสูงมีส่วนที่จะทำให้ยีสต์เจริญได้ดี โดยทั่วไปไวน์น้ำผึ้งผสมน้ำผลไม้มีการเติมน้ำผลไม้ในช่วงร้อยละ10-50 (Rankine,1989) ในการวิจัยปริมาณน้ำมะเกี๋ยงเข้มข้นที่นำมาปรับปริมาณกรดในน้ำหมักเริ่มต้นใช้อัตราส่วนน้ำมะเกี๋ยง : น้ำ เท่ากับ 1:8 คิดเป็นร้อยละเท่ากับ 12.5 อาจเนื่องมาจากปริมาณกรดที่มีอยู่ในผลมะเกี๋ยงสูง เมื่อมีการเจือจางด้วยน้ำมากทำให้สารอาหารอื่นๆเจือจางด้วยทำให้ไม่เพียงพอกับความต้องการของยีสต์ ในการวิจัยนอกจากจะได้โปรตีนที่มีอยู่ในผลมะเกี๋ยง ยังมีการเติมไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตลงไป เพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจนให้กับยีสต์ปริมาณ 130มก./ลิตร (Rankine,1989) จากการศึกษาของสมบูรณ์ เตชัญญวรากูล (2530) พบว่า ปริมาณไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิตไวน์น้ำผึ้งคือ ปริมาณ 500 มก./ ลิตร ในการวิจัยนี้เติมไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 130 มก./ลิตร ซึ่งมีปริมาณต่ำกว่า นอกจากการเติม DAP เพื่อเป็นสารอาหารให้กับยีสต์แล้ว ยังมีการเติมกรดแอสคอร์บิก 40 มก./ลิตร เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชั่น และเติม เพคติเนสปริมาณ 110 มก./ลิตร เพื่อช่วยทำให้ไวน์ใส สำหรับน้ำมะเกี๋ยงที่นำมาใช้เป็นองค์ประกอบในน้ำหมักได้วิเคราะห์ความเป็นกรดในรูปซิตริกเพราะจากการศึกษาของทวีพร อุณจักร(2530) รายงานว่าในผลมะเกี๋ยงสุกมีกรดซิตริกมากที่สุด คือ ปริมาณร้อยละ 2.28 ในงานวิจัยนี้วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด(คิดในรูปกรดซิตริก) ได้ร้อยละ 2.16 อย่างไรก็ตามปริมาณกรดในผลมะเกี๋ยงมีความแตกต่างกันสูงในแต่ละสายต้น จึงอาจจะเป็นเหตุผลที่ทำให้ปริมาณกรดทั้งหมด(ในรูปกรดซิตริก) แตกต่างจากรายงานของทวีพร อุณจักร(2530) ซึ่งอาจเนื่องจากตัวอย่างที่ใช้มาจากสายต้นที่ต่างกัน จากการทดลองเบื้องต้นพบว่านอกจากปริมาณกรดที่มีความแตกต่างกัน สีของผลมะเกี๋ยงก็มีความแตกต่างกัน กล่าวคือผลมะเกี๋ยงที่มีขนาดเล็กเมื่อนำไปต้ม เพื่อเตรียมน้ำมะเกี๋ยงจะให้น้ำมะเกี๋ยงที่สีเข้มกว่าน้ำมะเกี๋ยงจากผลมะเกี๋ยงที่มีขนาดใหญ่ ดังนั้นในงานวิจัยจึงเลือกใช้ผลมะเกี๋ยงที่มีขนาดเล็กมาทำการวิเคราะห์จากการวิเคราะห์ซึ่งสกัดโดยใช้ SEP PAK C -18 และทำให้แห้งโดยใช้ Freeze dryerพบว่ามีปริมาณแอนโธไซยานินในผลมะเกี๋ยงเท่ากับ 36.22 มก./ลิตร ปริมาณและชนิดแอนโธไซยานินในผลไม้จะแตกต่างกันไป สอดคล้องกับ Boyles and Wrolstad (1993) ที่รายงานว่า ปริมาณแอนโธไซยานินในน้ำราสเบอรี่ซึ่งเป็นผลไม้สีแดงเข้มออกม่วง มีปริมาณตั้งแต่

4 - 1,102 มก./ลิตร ผลมะเกี๋ยงมีแอนโธไซยานินประเภท cyanidin - 3 - glucosides เป็นองค์ประกอบหลัก และ cyanidin 3-5 glucosides เป็นองค์ประกอบรอง(ทวีพร อุณจักร,2530) ซึ่งต่างจากองุ่นที่มีแอนโธไซยานินประเภท anthocyanidin monoglucosides ที่มี malvidin เป็นองค์ประกอบหลัก (Rankine,1989) นอกจากนี้ในการเตรียมน้ำหมักได้วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดซึ่งมีอยู่น้อยมาก คือมีค่าตั้งแต่ 0-2 องศาบริกซ์ ดังนั้นในการเตรียมน้ำหมักเพื่อผลิตไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยงน้ำตาลส่วนใหญ่ที่เป็นแหล่งคาร์บอนให้กับยีสต์จึงได้มาจากน้ำผึ้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีในระหว่างการหมักและบ่ม

การหาปริมาณแอลกอฮอล์ในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ Vinometer เป็นเครื่องมือในการวัดแอลกอฮอล์โดยอาศัยหลักการของแรงตึงผิว และได้มีการสุ่มเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการวัดกับ Gas Chromatography พบว่า Vinometer สามารถอ่านค่าได้ใกล้เคียงกับ Gas Chromatography Vinometer จึงเป็นเครื่องมือที่สามารถใช้ในการวัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้แม่นยำและสะดวกรวดเร็ว

เมื่อเริ่มต้นหมักไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยง ที่มีปริมาณกรดทั้งหมด(ในรูปกรดซิตริก)ใน น้ำหมัก เริ่มต้นร้อยละ 0.5 และร้อยละ 0.6 โดยใช้เชื้อยีสต์ 3 สายพันธุ์ คือ montrachet , burgundy และ bayanus พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มสูงขึ้นตั้งแต่การหมักในวันที่ 3 (รูปที่ 4.1 และตารางที่ ค.3,ค.4และค.5) ทุกหน่วยการทดลองมีแอลกอฮอล์ร้อยละ 3.1 - 3.7 โดยหน่วยทดลองที่ใช้กรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 และยีสต์สายพันธุ์ burgundy มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงกว่าหน่วยทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) หลังจากวันที่ 3 แอลกอฮอล์มีแนวโน้มสูงขึ้นโดยวันที่ 6 - 12 มีแอลกอฮอล์ร้อยละ4.8 - 8.5 ถึงวันที่ 18 แอลกอฮอล์มีปริมาณคงที่จนถึงวันที่ 21 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำหมักที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 และ 0.6 พบว่า น้ำหมักที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 มีปริมาณแอลกอฮอล์ มากกว่ากรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 3 ของการหมักจนถึงวันที่ 12 สายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันไม่มีผลต่อการสร้างและเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ในทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวสามารถบ่งบอกได้ว่า ภาวะการหมักที่มีปริมาณกรดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 เหมาะสมในการเจริญของยีสต์มากกว่าร้อยละ 0.6 โดยในวันที่ 15 ยีสต์สามารถสร้างแอลกอฮอล์ได้สูงร้อยละ 8.9 - 9.2 หน่วยทดลองที่มีกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 ยีสต์สายพันธุ์ montrachet มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงกว่าหน่วยทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) หลังจากวันที่ 15 แอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ เมื่อสิ้นสุดการหมักมีแอลกอฮอล์ร้อยละ 9.8 - 10 แต่ละหน่วยทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ในน้ำหมักเริ่มต้นมีสารอาหารต่างๆเพียงพอที่ยีสต์นำมาใช้ในการเจริญเติบโต (Berry, Russell and Stewart ; 1987.) การหมักจึงเกิดขึ้นเต็มที่ หลังวันที่ 15 แอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ และเริ่มคงที่ในวันที่ 18 จนสิ้นสุดการหมัก เนื่องจากสารอาหารลดลงมากยีสต์ไม่มีสารอาหารที่จะนำไปใช้ เพื่อผลิตแอลกอฮอล์ (Amerine, Berg and Cruess ; 1972) นอกจากนี้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงขึ้นมีผลทำให้ยีสต์มีความแข็งแรงลดลง

ในช่วงบ่มคือตั้งแต่หลังวันที่ 21 ปริมาณแอลกอฮอล์ค่อนข้างคงที่ (รูปที่ 4.1 และตารางที่ค.1,ค.2และค.3) ในแต่ละหน่วยการทดลองมีแอลกอฮอล์ระหว่างร้อยละ 9.8 - 10 ในวันที่ 35 และ 42 มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 9.05 - 9.55 โดยหน่วยทดลองที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 ยีสต์สายพันธุ์ montrachet มีแอลกอฮอล์สูงกว่าหน่วยทดลองอื่นแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ ($p \leq 0.05$) หลังจากบ่มได้ 49 วัน จนสิ้นสุดการบ่มในวันที่ 84 มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 9 - 9.5 ซึ่งแต่ละหน่วยทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ($p > 0.05$) สายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอลกอฮอล์ในช่วงการบ่มเริ่มต้นจนถึงวันที่ 70 วันที่ 77 - 84 ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงกว่ากรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในการบ่มไวน์แอลกอฮอล์ลดลงเล็กน้อยเนื่องจาก การระเหยในขณะที่เก็บตัวอย่าง นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรีย Acetobacter สามารถออกซิไดส์เอทธานอลเป็นอะเซทท้ลดีไฮด์ซึ่งปฏิกิริยามีดังนี้ (Vine, 1991)

$$C_2H_5OH + {}^{1}/_{2}\ O_2 \xrightarrow{\text{Acetobacter}} CH_3CHO + H_2O$$

เมื่อสิ้นสุดการหมัก และการบ่มปริมาณแอลกอฮอล์ จึงไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ ค.3)

เมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างของปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักเริ่มต้นที่แตกต่างกัน พบว่า ขณะหมักที่กรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 และร้อยละ 0.6 มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ โดยการหมักที่กรดทั้งหมดร้อยละ 0.5 มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงและใช้ระยะเวลาสั้นกว่า ในน้ำหมักที่มีกรดทั้งหมดร้อยละ 0.6 (ตารางที่ ค.1) ทำให้ช่วงเวลาในการหมักสั้นโอกาสในการปนเปื้อนจากแบคทีเรียมีน้อย

จากการศึกษาถึงชนิดสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันในการหมักไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยงพบว่า การใช้เชื้อยีสต์ต่างสายพันธุ์ในการหมักไวน์ ไม่ทำให้ปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ ค.2) แต่มีแนวโน้มว่าการหมักโดยใช้เชื้อยีสต์สายพันธุ์ montrachet ทำให้ไวน์ที่ได้มีแอลกอฮอล์สูงและระยะเวลาในการหมักสั้น แต่เมื่อสิ้นสุดการหมักปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตจากสายพันธุ์ bayanus สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้เท่ากับสายพันธุ์ montrachet ซึ่งสอดคล้องกับ Reed และ Nagodawithana (1991) รายงานว่ายีสต์สายพันธุ์ bayanus สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูง แต่โดยทั่วไปในการหมักไวน์นิยมใช้สายพันธุ์ montrachet

สายพันธุ์ยีสต์นอกจากจะมีความสำคัญต่อการผลิตแอลกอฮอล์แล้ว การลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด จะนำมาพิจารณาถึงประสิทธิภาพของยีสต์ โดยในการทดลองใช้ hand refractometer วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด อาศัยหลักการหักเหของแสงวัดปริมาณสารในรูปของสารละลายของแข็งซึ่งส่วนใหญ่เป็นพวกน้ำตาล ดังนั้นถ้ามีน้ำตาลมากค่าที่อ่านได้จะใกล้เคียงความจริง แต่ถ้าเหลือน้ำตาลอยู่น้อยค่าที่อ่านได้มีโอกาสผิดพลาดมากขึ้น เพราะสารอื่น เช่น แอลกอฮอล์ สามารถทำให้เกิดการหักเหของแสง (ปราโมทย์ ธรรมรัตน์,2531) เมื่อเริ่มต้นหมักน้ำหมักที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้น

ร้อยละ 0.5 และ 0.6 โดยใช้เชื้อยีสต์ 3 สายพันธุ์ คือ montrachet burgundy และ bayanus พบว่า เมื่อเริ่มต้นหมักนั้นในน้ำหมักมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 20 องศาบริกซ์ มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเริ่มลดลงตั้งแต่วันที่ 3 (รูปที่ 4.2 และตารางที่ ค.4,ค.5และค.6) โดยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ลดลงเหลือ 17.8 - 18.5 องศาบริกซ์ หน่วยทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 เชื้อยีสต์สายพันธุ์ montrachet ใช้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ต่ำกว่าหน่วยการทดลองอื่นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)โดยสายพันธุ์ burgundy และ bayanus มีความสามารถในการใช้น้ำตาลไม่แตกต่างกันทางสถิติ($p>0.05$) (ตารางที่ ค.6) แนวโน้มหลังวันที่ 3 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลงทุกหน่วยการทดลองโดยในวันที่ 6 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลง 15 - 15.6 องศาบริกซ์โดยหน่วยทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) กับร้อยละ 0.6 ความสามารถในการใช้ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) วันที่ 9 ถึง 12 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลงเหลือ 10 - 12.6 องศาบริกซ์ ซึ่งที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นและสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกัน ไม่มีผลต่อการลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทางสถิติ ($p>0.05$) วันที่ 15 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลงเหลือ 8.3 - 8.9 องศาบริกซ์ โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ยีสต์สายพันธุ์ montrachet มีความสามารถในการลดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด แตกต่างจากสายพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) (ตารางที่ ค.5)วันที่ 18 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเหลือ 7.8 - 8 องศาบริกซ์ กรดทั้งหมดเริ่มต้นและยีสต์แต่ละสายพันธุ์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อสิ้นสุดการหมักในวันที่ 21 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเหลือ 7.1 - 7.5 องศาบริกซ์ โดยหน่วยทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 เชื้อยีสต์สายพันธุ์ bayanus มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ต่ำกว่าหน่วยทดลองอื่นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) (ตารางที่ ค.4 และ ค.5) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดค่อยๆลดลงในแต่ละหน่วยทดลอง (ตารางที่ ค.6) เพราะปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นและสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันมีผลต่อการลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด การลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เนื่องมาจากยีสต์ใช้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดซึ่งส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานในกระบวนการหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ (Berry, Russell and Stewart; 1987)

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในช่วงบ่มตั้งแต่วันที่ 28 เหลืออยู่ 7.1 - 7.5 องศาบริกซ์ การเปลี่ยนแปลงในช่วงบ่มมีเล็กน้อย โดยหน่วยการทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ยีสต์สายพันธุ์ bayanus สามารถใช้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมากกว่าหน่วยการทดลองอื่นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) (ตารางที่ ค.6) วันที่ 35 - 56 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเหลือ 6.9 - 7.7 องศาบริกซ์ โดยน้ำหมักที่มีปริมาณกรดทั้งหมด

เริ่มต้นร้อยละ 0.5 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดแตกต่างจากน้ำหมักที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$) แต่สายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันไม่มีผลต่อการลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดทางสถิติ ($p > 0.05$) วันที่ 63 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 7.5 - 7.7 องศาบริกซ์ โดยหน่วยทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ยีสต์สายพันธุ์ burgundy มีความแตกต่างในการใช้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมากกว่าหน่วยทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ค.4และค.5) วันที่ 70 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 7.4 - 7.6 องศาบริกซ์ โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 มีความแตกต่างจากร้อยละ 0.6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่สายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันไม่มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด วันที่ 77 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 7.4 - 7.6 องศาบริกซ์ ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นที่ต่างกันและสายพันธุ์ยีสต์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อสิ้นสุดการบ่มวันที่ 84 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมี 7.4 - 7.6 องศาบริกซ์ โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้น ร้อยละ0.6 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่ำกว่าปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่สายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ($p > 0.05$) (ตารางที่ ค.4 - ค.5)

ช่วงการบ่มปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยเกือบจะคงที่ ในช่วงการบ่มสายพันธุ์ยีสต์ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทางสถิติ (ตารางที่ ค.5) เพราะยีสต์หลงเหลืออยู่ปริมาณน้อยมากที่จะทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่มีอยู่ไม่มากนักเปลี่ยนแปลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของดารณี นางแลและคณะ(2538) รายงานว่าในการทำไวน์มะเกี๋ยงเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของไวน์มะเกี๋ยงในระหว่างการหมักและบ่มพบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลง ขณะที่แอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นระหว่างการบ่ม ปริมาณแอลกอฮอล์มีแนวโน้มลดลงขณะที่น้ำตาลมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย

เมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างของปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักเริ่มต้นที่แตกต่างกันพบว่าปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักเริ่มต้นที่ต่างกันมีผลต่อความแตกต่างของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดตลอดช่วงการหมักและบ่ม โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 จะเหลือปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดน้อยกว่าร้อยละ 0.5 เนื่องจากยีสต์เจริญเติบโตได้ในน้ำหมักที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ0.6 ได้ดีกว่าจึงทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเหลืออยู่ในปริมาณน้อยกว่าในน้ำหมักที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5

จากการศึกษาถึงชนิดของสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันในการหมักไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยงพบว่า มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยยีสต์แต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการใช้น้ำตาลต่างกัน (Amerine, Berg and Cruess; 1972) ในช่วงแรกของการหมักพบว่าสายพันธุ์ burgundy และ bayanus มีความสามารถในการใช้น้ำตาลได้ดีกว่า สายพันธุ์ montrachet

แต่เมื่อหลังจากบ่มสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

ความสัมพันธ์ของปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด จากรูปที่ 4.3 แสดงถึงความสัมพันธ์ของปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักและบ่ม กับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เมื่อหาค่าความสัมพันธ์แบบ regression ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยได้ความสัมพันธ์ดังสมการ

$$y = 0.5383x + 2.7949$$

เมื่อ y หมายถึง ปริมาณแอลกอฮอล์

x หมายถึง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่ยีสต์ใช้ไป

ในระหว่างการหมักปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่าลดลงในขณะที่แอลกอฮอล์จะเพิ่มขึ้น จากความสัมพันธ์ดังกล่าว ค่า $R^2 = 0.874$ แสดงว่าจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของแอลกอฮอล์และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด แตกต่างจากความน่าจะเป็นเล็กน้อย แต่อย่างไรก็ตามจากความสัมพันธ์ดังกล่าว สามารถใช้คาดการณ์ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นเมื่อวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดได้จากสมการดังกล่าวข้างต้น ซึ่งสามารถใช้ควบคุมการผลิตไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยงได้

ในการหมักยีสต์ใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ นอกจากแอลกอฮอล์แล้ว ยีสต์จะสร้างกรดอินทรีย์ต่างๆออกมาละลายอยู่ในน้ำหมัก ในงานวิจัยนี้น้ำหมักเริ่มต้นมีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้น(คิดในรูปกรดซิตริก) ร้อยละ 0.5 และร้อยละ 0.6 พบว่าเมื่อเริ่มต้นหมัก 3 วัน มีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.62 - 0.73 (รูปที่ 4.4 และตารางที่ ค.9) โดยหน่วยทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 เชื้อยีสต์สายพันธุ์ montrachet มีปริมาณกรดทั้งหมดต่ำกว่าหน่วยทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ค.7และค.8) วันที่ 6 ถึง 9 ของการหมัก ปริมาณกรดทั้งหมดอยู่ระหว่างร้อยละ 0.68 - 0.75 โดยหน่วยทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 เชื้อยีสต์สายพันธุ์ montrachet มีปริมาณกรดทั้งหมดต่ำกว่าหน่วยทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งยีสต์สายพันธุ์ burgundy และ bayanus มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกรดทั้งหมดเท่ากัน วันที่ 12 ปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุดคือร้อยละ 0.72 - 0.79 โดยยีสต์สายพันธุ์ bayanus มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าสายพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในวันที่ 15 มีปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.72 - 0.77 โดยหน่วยการทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.6 เชื้อยีสต์สายพันธุ์ bayanus มีปริมาณกรด ทั้งหมดสูงกว่าหน่วยการทดลองอื่นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) วันที่ 18 จนสิ้นสุดการหมักในวันที่ 21 มีปริมาณกรดทั้งหมดลดลงเล็กน้อยคือ ร้อยละ 0.69 - 0.77 โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าปริมาณทั้งหมดร้อยละ 0.5 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($p \leq 0.05$) สายพันธุ์ของยีสต์ที่ต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณกรดทั้งหมดในช่วงบ่มวันที่ 28 มีปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.69 - 0.74 ซึ่งมีปริมาณกรดค่อนข้างคงที่หลังจากสิ้นสุดการหมัก โดยที่น้ำหมักที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าร้อยละ 0.5 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สายพันธุ์ยีสต์ต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด วันที่ 35 ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยคือร้อยละ 0.73 - 0.75 ปริมาณกรดทั้งหมดและสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันไม่มีผลต่อปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นทางสถิติ ($p > 0.05$) วันที่ 42 มีปริมาณกรดทั้งหมดค่อนข้างคงที่คือร้อยละ 0.71 - 0.76 ยีสต์สายพันธุ์ bayanus มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าสายพันธุ์อื่น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สายพันธุ์ montrachet และ burgundy ที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากัน ปริมาณปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดทางสถิติ ($p > 0.05$) วันที่ 49ถึง 56 ปริมาณกรดทั้งหมดแทบจะไม่มีการเปลี่ยนแปลง คือร้อยละ 0.68 - 0.76 โดยหน่วยทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ยีสต์สายพันธุ์ bayanus มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าหน่วยทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) หลังจากวันที่ 56 คือวันที่ 63 ถึง 84ซึ่งสิ้นสุดการหมักมีปริมาณกรดทั้งหมดค่อนข้างคงที่ร้อยละ 0.69 - 0.76 โดยหน่วยทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 เชื้อยีสต์สายพันธุ์ montrachet มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าหน่วยทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ปริมาณกรดทั้งหมดช่วงการหมักและการบ่ม มีการเปลี่ยนแปลง (ตารางที่ ค.7,ค.8 และ ค.9) เพราะยีสต์แต่ละสายพันธุ์สามารถสร้างกรดได้ต่างกัน(Amerine, Berg and Cruess; 1972) ซึ่งกรดที่สร้างขึ้นเป็นกรดอินทรีย์ที่มีทั้งกรดไม่ระเหยและกรดระเหย สำหรับเชื้อยีสต์ทุกสายพันธุ์ปริมาณกรดทั้งหมดในช่วงกลางของการหมัก มีปริมาณสูงกว่าในระยะที่หมักสมบูรณ์แล้วเล็กน้อย โดยปกติยีสต์ที่อยู่ในระยะกำลังเจริญจะสร้างกรดออกมาปริมาณมาก ได้แก่ กรดแลกติก กรดมาลิก กรดซิตริก กรดฟอร์มิก และกรดซัคซินิก (Amerine, Berg and Cruess; 1972)

เมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างของปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักเริ่มต้นที่แตกต่างกันพบว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดทั้งหมด เนื่องจากยีสต์เริ่มสร้างกรดตั้งแต่ช่วงแรกของการหมักมีผลทำให้ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นโดยจะเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 0.1 - 0.3(ตารางที่ ค.7และ ค.8) จากการศึกษาของมนัญญา สมบูรณ์ทรัพย์ (2537) พบว่าในการผลิตไวน์น้ำผึ้งผลไม้ เมื่อสิ้นสุดการหมักยีสต์ทุกสายพันธุ์จะสร้างกรดต่างๆ เพิ่มขึ้นประมาณ 1 เท่าตัว ต่างจากในงานวิจัยนี้คือ ในงานวิจัยมีการกำหนดปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 และ 0.6 ซึ่งโดยปกติปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำหมักไวน์ คือ ร้อยละ 0.5 - 0.7 (ปราโมทย์ ธรรมรัตน์, 2532) จากการศึกษาของมนัญญา สมบูรณ์ทรัพย์ (2537) ในน้ำหมักเริ่มต้นของไวน์น้ำผึ้งผลไม้มีปริมาณกรดทั้งหมด (คิดในรูปกรดซิตริก) ร้อยละ 0.23 ซึ่งไม่มีการปรับปริมาณกรดทั้งหมด

เริ่มต้น แต่เมื่อสิ้นสุดการหมักมีปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.53 - 0.57 จากการศึกษาถึงชนิดของสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันในการหมักไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยงพบว่า มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด (ตารางที่ 4.7 - 4.8) สามารถอธิบายได้ด้วยเหตุผลเดียวกันคือ ยีสต์สามารถสร้างกรดได้ในปริมาณต่างกัน

กรดมาลิกเป็นกรดอินทรีย์อีกชนิดหนึ่งที่มีอยู่ในผลมะเกี๋ยงในปริมาณร้อยละ 0.14 (ทวีพร อุณจักร, 2530) กรดนี้ถ้ามีในปริมาณสูงจะให้กลิ่นไม่ดีกับไวน์ (Rankine, 1989) Romano and Suzzi (1993) ศึกษายีสต์สปีชีส์ Zygosaccharomyces โดยสังเกตว่า *Zygosaccharomyces bailii* ใช้กรดมาลิกได้ดีสามารถอยู่ได้ที่มีไฮโดรเจนซัลไฟด์ และกรดอะซิติกต่ำ คุณสมบัติในการดกตะกอนสูงสามารถนำมาใช้ในการลดกรดมาลิกในไวน์ นอกจากยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ จะมีผลต่อปริมาณกรดแล้ว แบคทีเรียพวก Lactobacillus และ Leuconostoc ที่มีอยู่ในไวน์สามารถใช้กรดมาลิกเกิดกรดแลกติก โดยผ่านขบวนการหมักแบบมาโล- แลกติกและทำให้ปริมาณกรดแลกติกลดลงได้

กรดอินทรีย์ที่ยีสต์สามารถผลิตได้ขณะหมักจะมีทั้งกรดระเหย และกรดไม่ระเหย ซึ่งกรดระเหยจะมีความสำคัญต่อคุณภาพของไวน์โดยปริมาณกรดระเหย ที่วิเคราะห์ได้หลังจากทำการหมักได้ 3 วัน มีปริมาณกรดระเหยเกิดขึ้น ร้อยละ 0.03 - 0.06 โดยหน่วยทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ยีสต์สายพันธุ์ montrachet มีปริมาณกรดระเหยสูงกว่าหน่วยทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 4.5 และตารางที่ ค.10-ค.11) รองลงมาคือสายพันธุ์ burgundy และ bayanus ตามลำดับ วันที่ 6 ปริมาณกรดระเหยสูงร้อยละ 0.04 - 0.06 โดยหน่วยทดลองที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 เชื้อยีสต์สายพันธุ์ montrachet มีปริมาณกรดระเหยสูงกว่าหน่วยทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สายพันธุ์ burgundy และ bayanus มีความสามารถในการสร้างกรดระเหยเท่ากัน วันที่ 9 ถึง 15 ปริมาณกรดระเหยเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยคือ ร้อยละ 0.05 - 0.07 โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 มีต่อการสร้างกรดระเหยมากกว่าที่ร้อยละ 0.5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ค.10) แต่สายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ ค.10) วันที่ 18 กรดระเหยลดลงเล็กน้อยคือมีปริมาณร้อยละ 0.04 - 0.05 โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นและสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อสิ้นสุดการหมักในวันที่ 21 กรดระเหยมีปริมาณเกือบคงที่คือร้อยละ 0.03 - 0.05 ซึ่งยีสต์สายพันธุ์ montrachet มีความสามารถในการสร้างกรดระเหยสูงกว่าสายพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) รองลงมาคือ สายพันธุ์ burgundy และ bayanus ตามลำดับ ตลอดช่วงการหมักหน่วยทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ยีสต์สายพันธุ์ montrachaet สามารถสร้างกรดระเหยได้สูงกว่าหน่วยการทดลองอื่น (รูปที่ 4.6 และตารางที่ ค.10,ค11และค.12)

ตลอดช่วงการบ่มในวันที่ 28 ถึง 84 เมื่อสิ้นสุดการบ่มปริมาณกรดระเหยมีร้อยละ 0.025 - 0.05 ยีสต์สายพันธุ์ montrachaet มีความสามารถในการสร้างกรดระเหยสูงกว่าสายพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยสายพันธุ์ burgundy และ bayanus มีความสามารถในการสร้างกรดระเหยรองลงมาตามลำดับ ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นไม่มีผลต่อการเพิ่มของกรดระเหยทางสถิติ ($p > 0.05$) (รูปที่ 4.5 และตารางที่ ค.10,ค.11) ปริมาณกรดระเหยในช่วงบ่มในแต่ละวันมีความเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ซึ่งต่างกับช่วงหมักที่กรดระเหยสามารถสร้างขึ้นได้ตั้งแต่ช่วงแรกของการหมัก กรดระเหยเป็นผลพลอยได้ของยีสต์เมื่อเกิดการหมัก ส่วนใหญ่กรดระเหยที่สร้างขึ้นเป็นกรดอะซิติกซึ่งในไวน์ไม่ควรมีเกิน 1.4 กรัม/ลิตร (Magalith, 1981) จากการทดลองในวันที่ 12 ของการหมักยีสต์สามารถสร้างกรดระเหยได้สูงสุดร้อยละ 0.06 - 0.07 ซึ่งต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนดไว้มาก ยีสต์สามารถสร้างกรดระเหยได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ยีสต์พวก *Hansenula anomala*, *Hanseniuspora guilliermondii* และ สปีชีส์ของ Brettanomyces สร้างกรดอะซิติกสูงกว่ายีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่สามารถสร้างกรดอะซิติก 0.1 - 0.8 กรัม/ลิตร (Shimazu and Watanabe, 1981) เมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างของปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักเริ่มต้นที่แตกต่างกันพบว่า ที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ยีสต์สามารถสร้างกรดอะซิติกได้สูงกว่าร้อยละ 0.5 แสดงว่าในขณะหมักยีสต์สามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่า จำนวนยีสต์ที่มากกว่าย่อมสามารถสร้างกรดได้ในปริมาณสูง ในขณะบ่มกรดอะซิติกสามารถถูกออกซิไดส์โดยเชื้อแบคทีเรีย Acetobacter เป็นกรดอะซิติก (Vine, 1991;Reed and Nagodawithana, 1991) นอกจากเชื้อแบคทีเรีย Acetobacter แล้ว *Gluconobacter oxydans* สามารถสร้างกรดอะซิติกได้เช่นเดียวกัน (Drysdale and Fleet, 1988) ในงานวิจัยนี้ขณะบ่มปริมาณกรดระเหยมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก สามารถชี้ให้เห็นได้ว่าไวน์มีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียน้อย

เมื่อศึกษาถึงสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันในการหมักไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยงพบว่า ยีสต์สายพันธุ์ montrachet สามารถสร้างกรดอะซิติกได้สูงกว่า burgundy และ bayanus ตามลำดับในขณะหมักและบ่ม โดยปกติคุณภาพไวน์ขึ้นอยู่กับ 3 ขั้นตอน คือ ขั้นที่หนึ่งการปนเปื้อนของผลไม้ก่อนนำมาทำน้ำหมัก ขั้นที่สองความสามารถในการเจริญเติบโตของเชื้อระหว่างหมัก ขั้นที่สามการเจริญเติบโตของเชื้อระหว่างการบ่ม (Drysdale and Fleet, 1988,1989) การปนเปื้อนในผลไม้เชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้ตั้งแต่ช่วงแรกของการหมักโดยจะไปรบกวนการเจริญเติบโตของยีสต์ในระหว่างการหมัก และเป็นสาเหตุให้เกิดการหยุดหมัก (Drysdale and Fleet, 1989) นอกจากนี้กรดอะซิติกที่เกิดขึ้นมีผลต่อคุณภาพของไวน์ทางประสาทสัมผัส เพราะเป็นสารที่มีกลิ่นแรง เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถสร้างกรดระเหยได้สูงในสภาพที่เป็นด่าง ในงานวิจัยน้ำหมักมีสภาพเป็นกรด ยีสต์สามารถสร้างกรดระเหยได้เช่นกัน (Amerine and Ough,1974) ส่วนปริมาณกรดไม่ระเหย เมื่อการหมักผ่านไป 3 วัน มีกรดไม่ระเหยเกิดขึ้นร้อยละ 0.5 - 0.6 โดย

หน่วยการทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ยีสต์สายพันธุ์ bayanus และ burgundy ให้ปริมาณกรดไม่ระเหยสูงกว่าหน่วยการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 4.6 และ ตารางที่ ค.13-ค.15) ในวันที่ 6 กรดไม่ระเหยเพิ่มขึ้นเล็กน้อยร้อยละ 0.6 - 0.68 โดยหน่วยการทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ยีสต์สายพันธุ์ bayanus และ burgundy ให้ปริมาณกรดไม่ระเหยสูงกว่าหน่วยการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) วันที่ 9 กรดไม่ระเหยสูงขึ้นเล็กน้อยคือ ร้อยละ 0.6 - 0.7 โดยปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นและสายพันธุ์ยีสต์ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกรดไม่ระเหยทางสถิติ ($p > 0.05$) วันที่ 12 กรดไม่ระเหยเพิ่มขึ้นเล็กน้อยคือร้อยละ 0.65 - 0.7 ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกรดไม่ระเหยทางสถิติ ($p > 0.05$) ยีสต์สายพันธุ์ bayanus มีสามารถในการสร้างกรดไม่ระเหยสูง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สายพันธุ์ burgundy และ montrachet ตามลำดับ ในวันที่ 15 ถึง 18 ปริมาณกรดไม่ระเหยค่อนข้างคงที่คือร้อยละ 0.65 - 0.75 โดยปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นและสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดไม่ระเหยทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อสิ้นสุดการหมักในวันที่ 21 กรดไม่ระเหยค่อนข้างคงที่ร้อยละ 0.6 - 0.7 ที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ปริมาณกรดไม่ระเหยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไม่ระเหยทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ ค.13 , ค.14) ช่วงการหมักที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 มีปริมาณกรดไม่ระเหยสูงกว่าร้อยละ 0.5 (ตารางที่4.15) ยีสต์สายพันธุ์ burgundy และ bayanus มีความสามารถในการสร้างกรดไม่ระเหยสูงไม่แตกต่างกัน สายพันธุ์ montrachet สร้างกรดไม่ระเหยน้อยที่สุดในช่วงแรกของการหมัก ช่วงกลางของการหมักยีสต์สายพันธุ์ burgundy สร้างกรดไม่ระเหยสูงที่สุด รองลงมาคือ burgundy และ montrachet ตามลำดับ (ตารางที่ ค.14)

ช่วงบ่มในวันที่ 28 กรดไม่ระเหยมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากเกือบคงที่คือ มีปริมาณร้อยละ 0.6 - 0.7 (รูปที่ 4.6 และตารางที่ ค.15) โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 มีปริมาณกรดไม่ระเหยสูงกว่าที่ร้อยละ 0.5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ค.13) สายพันธุ์ยีสต์ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกรดไม่ระเหยทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ ค.14) วันที่ 35 ถึง 42 มีปริมาณกรดไม่ระเหยร้อยละ 0.6 - 0.7 โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นและสายพันธุ์ยีสต์ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกรดไม่ระเหยทางสถิติ($p > 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 49 มีปริมาณกรดไม่ระเหยแทบจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงคือร้อยละ 0.6 - 0.7 โดยหน่วยทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ยีสต์สายพันธุ์ bayanus มีปริมาณกรดไม่ระเหยสูงกว่าหน่วยทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ค.13 - ค.14) รองลงมาคือสายพันธุ์ burgundy และ montrachet ตามลำดับ วันที่ 54 จนสิ้นสุดการบ่มในวันที่ 84 มีปริมาณกรดไม่ระเหยเกือบคงที่คือ ร้อยละ 0.6 - 0.75 โดยหน่วยทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ยีสต์สายพันธุ์ bayanus มีปริมาณ

กรดไม่ระเหยสูงกว่าหน่วยทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สายพันธุ์ burgundy และ montrachet มีความสามารถในการสร้างกรดไม่ระเหยเท่ากัน (ตารางที่ ค.14) กรดไม่ระเหยช่วงหมักแตกต่างจากช่วงบ่มเพราะ เชื้อยีสต์สามารถสร้างกรดไม่ระเหยตั้งแต่ช่วงแรกของการหมักปริมาณสูงขึ้นเรื่อยๆ มีปริมาณสูงสุดในช่วงเกือบสิ้นสุดการหมัก หลังจากนั้นปริมาณกรดมีการเปลี่ยนแปลงน้อย กรดไม่ระเหยส่วนใหญ่เป็นกรดอินทรีย์ ซึ่งเกิดจากการเมตาบอลิสมของยีสต์ (Amerine, Berg and Cruess; 1972) ยีสต์สามารถสร้างกรดมาลิก แลกติก และซิตริก กรดซิตริกและมาลิกยีสต์สามารถดึงกลับเข้าไปใช้ในเซล (Berry, Russell and Stewart; 1987.)

เมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างของปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักเริ่มต้นที่แตกต่างกันพบว่ามีผลต่อกรดไม่ระเหย เพราะปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักเริ่มต้น เป็นปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับกรดไม่ระเหย โดยส่วนใหญ่กรดไม่ระเหยเป็นองค์ประกอบของปริมาณกรดทั้งหมด ดังนั้นเมื่อปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นกรดไม่ระเหยจึงเพิ่มขึ้นด้วย (รูปที่ 4.4, 4.6 และตารางที่ ค.9,ค.15) โดยทั่วไปเมื่อสิ้นสุดการหมักกรดซิตริกจะเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ40 โดยจะเป็นปฏิสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณน้ำตาล (Amerine,Berg and Cruess;1972) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองซึ่งปริมาณกรดทั้งหมด (คิดในรูปกรดซิตริก) ในช่วงหมักโดยเฉลี่ยอยู่ระหว่างร้อยละ0.5-0.7 เมื่อคำนวณแล้วจะได้ค่าประมาณร้อยละ40 สอดคล้องกับผลการทดลองของ Querol, Jimenez และ Huerta (1990) ศึกษาอุณหภูมิและปัจจัยต่างๆในระหว่างการหมักไวน์องุ่นใน 2 ฤดูกาล พบว่าเชื้อยีสต์มีผลต่อกรดมาลิก และกรดแลกติกในแต่ละช่วงของการหมัก ทำให้ปริมาณกรดมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาโดยที่*Hanseniaspora uvarum,Kloeckera javanica* และ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นยีสต์ที่พบในน้ำหมักมีจำนวนร้อยละ 12.3, 9.4, 62.5 ตามลำดับ ระหว่างการหมัก *S. cerevisiae* มีจำนวนร้อยละ 85.7 ของเซลยีสต์ทั้งหมดจนสิ้นสุดการหมัก การเกิดกรดซิตริกโดยการทำงานของยีสต์เป็นปฏิกิริยาโดยตรงของยีสต์ที่มีต่อน้ำตาล(Amerine ,Berg and Cruess; 1972)

ในงานวิจัยนี้ใช้น้ำผึ้งในการปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดแทนซูโครส ซึ่งในน้ำผึ้งจะประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นในน้ำหมักเริ่มต้นน้ำตาลส่วนใหญ่จึงประกอบด้วยกลูโคสและฟรุกโตสที่ยีสต์สามารถนำไปใช้ได้เลย โดยไม่ต้องย่อยสลายก่อนเหมือนซูโครส ซึ่งในการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ (คิดในรูปกลูโคส) ซึ่งเป็นน้ำตาลประเภทโมโนแซคคาไรด์ในน้ำหมักเริ่มต้นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 189-198 กรัม / ลิตร (ตารางที่ ค.18) เมื่อใช้ยีสต์ 3 พันธุ์ คือ *S. cerevisiae* สายพันธุ์montrachet ,burgundy และbayanus ที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 และ 0.6 ในน้ำหมักพบว่า น้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเหลือ7-10 กรัม/ ลิตร (ตารางที่ค.18) เมื่อสิ้นสุดการหมักในวันที่ 21 โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักเริ่มต้น และสายพันธุ์ยีสต์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (รูปที่ 4.7และตารางที่ค.16 และ ค.17) เมื่อเริ่มต้นบ่มจนสิ้นสุดการบ่มในวันที่ 81 มีน้ำตาลรีดิวซ์ 3-5 กรัม / ลิตร(ตารางที่ค.18)

ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้น และสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลรีดิวซ์ทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ ค.16,ค.17) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงมากในช่วงการหมักและมีปริมาณค่อนข้างคงที่ในช่วงบ่ม

เมื่อพิจารณาถึงความแตกต่างของปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำ ว่า ยีสต์สามารถใช้น้ำตาลรีดิวซ์ที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นใกล้เคียงกัน(ตารางที่ ค.16) และยีสต์แต่ละสายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างในการใช้น้ำตาลรีดิวซ์ โดยสายพันธุ์ montrachet burgundy และ bayanus สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสตั้งแต่เริ่มต้นหมักในวันที่ 0 จนถึงสิ้นสุดการหมักในวันที่21มีปริมาณ 183.94,184.6 และ186.14 กรัม/ลิตร ตามลำดับ(ตารางที่ค.17) ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากกระบวนการหมักร้อยละ 10,10และ 9.87 ตามลำดับ (ตารางที่ค.3) จากทฤษฎีในกระบวนการหมัก ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยผ่าน Embden-Meyerhof-pasnas pathway ซึ่งมีปฏิกิริยาดังนี้

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{เอนไซม์ในยีสต์}} 2C_2H_5OH + 2CO_2 + \text{พลังงาน}$$

ตามทฤษฎีจะได้เอทธานอลประมาณ 51.1% และคาร์บอนไดออกไซด์ 48.9%โดยน้ำหนัก ในทางปฏิบัติจะได้แอลกอฮอล์ประมาณ 48% และมีสารอื่นปนมาด้วย (Amerine and Singleton,1972) เมื่อคำนวณตามทฤษฎีจะได้ปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 11.91,11.95 และ 12.05 ตามลำดับ ค่าที่ได้จากการทดลองน้อยกว่าในทฤษฎี เพราะแอลกอฮอล์ที่สูญเสียอาจเกิดจากการระเหย หรือการเก็บตัวอย่าง นอกจากนี้ช่วงเวลาในการหมักยังมีผลต่อการใช้น้ำตาลโดยAmerine and Kunkee (1968) รายงานว่าในช่วงแรกของการหมักน้ำตาลมีความสำคัญมากกว่าช่วงท้ายของการหมัก สายพันธุ์ยีสต์มีความสำคัญเล็กน้อย ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการหมักไวน์ผลไม้ประมาณ 200 กรัม/ลิตร (Rankine, 1989)ซึ่งใกล้เคียงกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์ได้จากงานวิจัยคือ 190-197 กรัม/ลิตร

นอกจากน้ำตาลโมโนแซคาไรด์ที่ยีสต์สามารถนำไปใช้ได้ น้ำตาลซูโครสยีสต์สามารถนำไปใช้ได้ โดยทั่วไปในการผลิตไวน์องุ่นจะที่ไม่มีการเติมน้ำตาลลงในน้ำหมัก แต่ถ้าเป็นไวน์ผลไม้ชนิดอื่นจะมีการเติมน้ำตาลทราย (ซูโครส)ลงในน้ำหมัก เพื่อปรับปริมาณน้ำตาลให้ได้ตามต้องการ ในน้ำผึ้งจะมีน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสเป็นส่วนใหญ่ และซูโครสจะอยู่ปริมาณน้อยในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลซูโครสในน้ำหมักเริ่มต้นมีปริมาณ 30--33 กรัม/ลิตร (ตารางที่ ค.21) สอดคล้องกับปริมาณซูโครสที่มีอยู่ในน้ำหมักเริ่มต้นคือ 38 กรัม/ลิตร โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) และสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันไม่มีผลต่อปริมาณซูโครสทางสถิติ ($p>0.05$) (รูปที่ 4.8 และตารางที่ ค.22) เมื่อสิ้นสุดการหมักวันที่ 21

ปริมาณน้ำตาลซูโครสลดลงเหลือ 0.6-0.8 กรัม/ลิตร โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 ยีสต์สายพันธุ์ montrachet สามารถใช้น้ำตาลซูโครสได้มากกว่าหน่วยการทดลองอื่นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p\leq0.05$) (รูปที่ 4.8 และตารางที่ค.19,ค.20) น้ำตาลซูโครสจัดเป็นน้ำตาลประเภทไดแซคคาไรด์ จากตารางที่ ค.17 และ ค.20 พบว่า ยีสต์สามารถใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้ไม่แตกต่างกัน แต่ยีสต์สายพันธุ์ montrachet มีความสามารถในการใช้น้ำตาลซูโครสได้ดีกว่าสายพันธุ์อื่น อาจเป็นไปได้ว่า ยีสต์สายพันธุ์ montrachet สามารถย่อยสลายน้ำตาลซูโครสให้เป็นโมเลกุลเดี่ยวได้ดีกว่าสายพันธุ์อื่น ถึงแม้ว่าจะสามารถใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้ใกล้เคียงกัน การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปกลูโคส) ทำให้ทราบถึงปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในน้ำหมัก แต่การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในไวน์ซึ่งส่วนใหญ่คือน้ำตาล จะเป็นปริมาณน้ำตาลทั้งหมด จากตารางที่ ค.6 และ ค.18 จะเห็นว่า ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์จะคล้อยตามกัน คือจะลดลงมากในช่วงหมักและค่อนข้างคงที่ในช่วงบ่ม มีบางหน่วยการทดลองที่แตกต่างจากหน่วยการทดลองอื่น อาจเป็นไปได้ว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในไวน์ยังมีสารอื่นละลายอยู่ ได้แก่ กรด โปรตีนและรงควัตถุ เป็นต้น แต่ความแตกต่างนั้นมีน้อยมาก

ในกระบวนการหมักจะมีสารต่างๆที่มีความสำคัญในด้าน กลิ่น รส และบอดี้(body)ของไวน์ ซึ่ง การสร้างกลีเซอรอล ของเชื้อยีสต์ 3 สายพันธุ์ คือ montrachet , burgundy และ bayanus ที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 และ 0.6 พบว่า ในน้ำหมักเริ่มต้นมีกลีเซอรอลอยู่ร้อยละ 0.032 และ0.038 ตามลำดับ (ตารางที่ ค.24)โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักเริ่มต้นร้อยละ 0.6 มีกลีเซอรอลสูงกว่าที่ร้อยละ 0.5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) (รูปที่ 4.9 และตารางที่ ค.22) เมื่อสิ้นสุดการหมักวันที่ 21 กลีเซอรอลเพิ่มขึ้นมีปริมาณร้อยละ 0.05 - 0.08 ยีสต์สายพันธุ์ bayanus มีความสามารถในการสร้างกลีเซอรอลสูงกว่าสายพันธุ์อื่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) รองลงมาคือสายพันธุ์ burgundy และ montrachet ตามลำดับ (รูปที่ 4.9 และตารางที่ ค.23) ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นที่ต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกลีเซอรอลทางสถิติ (รูปที่ 4.19 และ ตารางที่ ค.24) ช่วงบ่มเดือนแรกในวันที่ 51 กลีเซอรอลลดลงเล็กน้อยคือร้อยละ 0.03 - 0.07โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นและสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกลีเซอรอลทางสถิติ ($p>0.05$) บ่มเดือนที่ 2 ในวันที่ 81 กลีเซอรอลลดลงเล็กน้อย คือ ร้อยละ 0.02 - 0.05โดยยีสต์สายพันธุ์ bayanus มีปริมาณกลีเซอรอลสูงกว่าสายพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) รองลงมาคือสายพันธุ์ burgundy และ montrachet ตามลำดับ โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกลีเซอรอลทางสถิติ ($p>0.05$) (รูปที่ 4.19 และตารางที่ ค.22 , ค.24) กลีเซอรอลยีสต์สร้างขึ้นในช่วงหมัก และลดลงเล็กน้อยในช่วงบ่ม กลีเซอรอลเป็นผลพลอยได้จากการหมักแอลกอฮอล์ ซึ่งผลิตได้โดยตรงจากแหล่งคาร์บอนคือ fructose - 6 - phosphate โดยผ่านปฏิกิริยารีดักชั่น (Berry, Russell and Stewart; 1987)

เมื่อพิจารณาถึงปริมาณกรดในน้ำหมักเริ่มต้นที่ต่างกัน พบว่าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกลีเซอรอล เนื่องจากยีสต์สามารถสร้างกลีเซอรอลได้ปริมาณใกล้เคียงกันในปริมาณกรดเริ่มต้นที่ต่างกัน

การศึกษาสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันในไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยง พบว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกลีเซอรอลโดยยีสต์แต่ละสายพันธุ์สามารถสร้างกลีเซอรอลในปริมาณต่างกัน นอกจากนี้เชื้อรา *Botrytis cinerea* สามารถสร้างกลีเซอรอลในไวน์ผลไม้หลายประเภทได้ในปริมาณสูง (Amerine, Berg and Cruess; 1972)

สำหรับเอสเทอร์ซึ่งยีสต์สามารถสร้างขึ้นในขณะหมัก พบว่าในน้ำหมักเริ่มต้นเมื่อตรวจสอบด้วยวิธีทางเคมีแล้วไม่พบเอสเทอร์ แต่เมื่อสิ้นสุดการหมักพบว่า มีเอสเทอร์ปริมาณ 23 - 26 มก./ลิตร (ตารางที่ ค.27) โดยที่อิทธิพลร่วมระหว่างปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นและสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกัน ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเอสเทอร์ทางสถิติ ($p>0.05$) (รูปที่ 4.10 และตารางที่ ค.25, ค.26) ช่วงบ่มวันที่ 51 เอสเทอร์เพิ่มขึ้น 38 - 40 มก./ลิตร โดยยีสต์สายพันธุ์ burgundy มีปริมาณเอสเทอร์สูง กว่าสายพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเอสเทอร์ทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อสิ้นสุดการบ่มวันที่ 81 เอสเทอร์เพิ่มสูงขึ้นเป็น 40 - 44 มก./ลิตร โดยยีสต์สายพันธุ์ burgundy และ bayanus สร้างเอสเทอร์ได้สูงกว่า montrachet อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ ค.26) แต่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเอสเทอร์ทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ ค.25) เอสเทอร์เพิ่มขึ้นในขณะหมักและจะเพิ่มขึ้นในขณะบ่ม ซึ่งเอสเทอร์เป็นสารที่มีมวลโมเลกุลสูง จะให้กลิ่นหอมกับไวน์ (Rehm and Reed, 1983)

เมื่อพิจารณาถึงปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักเริ่มต้นที่ต่างกัน พบว่า ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเอสเทอร์เนื่องจากยีสต์สามารถสร้างเอสเทอร์ในแต่ละปริมาณกรดที่แตกต่างกันได้ใกล้เคียงกัน

ยีสต์แต่ละสายพันธุ์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเอสเทอร์ เพราะยีสต์แต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการสร้างเอสเทอร์แตกต่างกัน ไม่เพียงแต่ความสามารถของยีสต์ที่สร้างเอสเทอร์ในขณะหมักเท่านั้น แต่ในช่วงบ่มเอสเทอร์เกิดจากปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น โดยกรดซิตริกจะถูกเอสเทอริไฟด์อย่างช้าๆ นอกจากกรดซิตริกแล้ว กรดแลกติกและกรดซัคซินิคสามารถเกิดสารประกอบเอสเทอร์อย่างรวดเร็ว โดยมียีสต์และแบคทีเรียเป็นตัวทำปฏิกิริยา (Amerine, Berg and Cruess; 1972)

ในระหว่างการหมักและบ่มไม่สามารถตรวจสอบพบอะเซทหัลดีไฮด์ด้วยวิธีทางเคมี อาจเป็นไปได้ว่า อะเซทหัลดีไฮด์เป็นสารตัวกลางที่เกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยซึ่งไม่ได้ถูก reduce โดย NADH และ alcohol dehydrogenase ไปเป็นแอลกอฮอล์ (Reed and Nagodawithana, 1991)

ไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยงที่ได้นำมาทดสอบประสาทสัมผัส สีจะเป็นองค์ประกอบในการพิจารณาให้คะแนนคุณภาพของไวน์ ในกระบวนการหมักจะมีการใส่โปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) 150 ppm เมื่อสิ้นสุดการหมัก เพื่อฆ่าเชื้อที่ยังหลงเหลืออยู่จากการหมัก แต่ KMS มีผลต่อสีโดยจะทำให้สีแดงของไวน์จางลง(Amerine, Berg and Cruess; 1972) จึงได้ทำการทดลองเบื้องต้น โดยทดลองทั้งใส่และไม่ใส่โปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ จากการทดลองเมื่อสังเกตพบว่า การลดลงของสีไม่แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากชนิดของรงควัตถุในผลมะเกี๋ยงเป็นปัจจัยสำคัญ

ในการประเมินค่าสี โดยใช้ค่า Hue ซึ่งเป็นการวัดค่าสีระบบหนึ่งซึ่งจะมีค่าตั้งแต่ 1 - 10 ซึ่งสีที่มีค่าน้อยจะมีสีอยู่ในโทนแดงม่วง เมื่อค่าเริ่มมากขึ้นสีจะเปลี่ยนไปอยู่ในโทนสีแดงเหลือง การวิเคราะห์ค่า Hue ของน้ำหมักเริ่มต้นวัดค่าได้ 1 - 1.4 โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 มีค่าสีมากกว่าที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 4.11 และตารางที่ ค.28) เมื่อสิ้นสุดการหมักค่าสีเพิ่มขึ้นมีค่า 1.4 - 1.9 (ตารางที่ ค.30) โดยหน่วยทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 ยีสต์สายพันธุ์ bayanus มีค่าสีสูงกว่าหน่วยทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 4.11 และตารางที่ ค.28 ,ค.30) รองลงมาคือ burgundy และ montrachet มีค่าใกล้เคียงกัน ช่วงบ่มในวันที่ 51 ที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 มีค่าความเข้มสีมากกว่าที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่สายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อสิ้นสุดการบ่มความเข้มสีมีค่า 1.5 - 2.0 โดยหน่วยทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 ยีสต์สายพันธุ์ bayanus มีค่าสีมากกว่าหน่วยทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) รองลงมาคือ montrachet และ burgundy ตามลำดับค่าสีมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อสิ้นสุดการหมักจะค่อยๆ เพิ่มขึ้น ในช่วงหมัก สีในน้ำหมักเริ่มต้นจะเป็นสีแดงเข้มออกม่วง เมื่อสิ้นสุดการหมักสีของไวน์จะค่อยๆ จางลงเป็นสีแดงปานกลาง ช่วงบ่มไวน์จะมีสีแดงอ่อนออกน้ำตาล

ผลการทดลองของ Lee และ Wicker (1991) ที่ศึกษาแอนโธไซยานินที่ผิวของลิ้นจี่ พบว่ามีแอนโธไซยานินประเภทไซยานิดิน-3-รูติโนไซด์ (cyanidin-3-rutinoside) , ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ (cyanidin -3- glucoside) ซึ่งพบในมะเกี๋ยงด้วย และ มัลวิดิน -3- อะเซทตัลกลูโคไซด์ (malvidin -3- acetylleucoside) โพลีเมอร์ของแอนโธไซยานินที่ปรากฏจะมีสีแดงออกน้ำตาล

ส่วนการวิเคราะห์แอนโธไซยานินในน้ำหมักเริ่มต้นมีปริมาณ 26 - 29 มก./ลิตร (รูปที่4.12 และตารางที่ ค.33) โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 มีปริมาณสูงกว่าปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (รูปที่ 4.12 และ ตารางที่ ค.31) เมื่อสิ้นสุดการหมักวันที่ 21 แอนโธไซยานินลดลงมีปริมาณ 8 - 14 มก./ลิตร ยีสต์สายพันธุ์

bayanus และ burgundy มีปริมาณแอนโธไซยานินสูงกว่าสายพันธุ์ montrachet อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ค.32) ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงแอนโธไซยานินทางสถิติ ($p > 0.05$) ช่วงบ่มเดือนที่ 1 วันที่ 51 แอนโธไซยานินลดลงเหลือ 3 - 5 มก./ลิตร โดยหน่วยการทดลองที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ0.6 ยีสต์สายพันธุ์montrachet มีปริมาณแอนโธไซยานินสูงกว่าหน่วยทดลองอื่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีสายพันธุ์ burgundy และ bayanus มีปริมาณแอนโธไซยานินใกล้เคียงกัน สิ้นสุดการบ่มเดือนที่ 2 ในวันที่ 81แอนโธไซยานินลดลงเหลือ 0.2 - 0.4 มก./ลิตร โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้น และสายพันธุ์ยีสต์ที่ต่างกัน ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแอนโธไซยานินทางสถิติ ($p > 0.05$) จากผลการทดลองแอนโธไซยานินลดลงเรื่อยๆ เมื่อสิ้นสุดการหมักและการบ่ม แอนโธไซยานินที่ลดลงไม่ได้หมดไป แต่เป็นไปได้ว่าแอนโธไซยานินเปลี่ยนรูปไป เป็นรูปแบบที่คงตัวกว่า ซึ่งสอดคล้องกับ Rommel , Healtherball และ Wrolstad (1990) รายงานว่าไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์เป็นรงควัตถุที่ไม่คงตัวมากที่สุด ดังนั้นจึงมีการเปลี่ยนรูปไปเป็นรูปแบบที่คงตัวกว่า

เมื่อพิจารณาถึงปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักเริ่มต้นที่แตกต่างกัน พบว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงในบางช่วง ซึ่งปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.6 สามารถให้ความคงตัวกับสีดีกว่าที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 เนื่องจากแอนโธไซยานิน สามารถคงตัวได้ดีในสภาพที่เป็นกรด (Amerine, Berg and Cruess; 1972)

สายพันธุ์ยีสต์ที่แตกต่างกันมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงแอนโธไซยานิน ในบางช่วงเอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์มีผลทำให้แอนโธไซยานินลดลงซึ่งแอนโธไซยานินที่ลดลงเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์และแอนโธไซยานิน จากการทดลองของ Huang(1955) ได้ทดลองใช้เอนไซม์ anthocyanase จากเชื้อราศึกษาการลดลงของ cyanidin -3- glucosides เอนไซม์จะทำให้สีของแอนโธไซยานินเกิดสีน้ำตาล (browning) Robinson et.al.(1966) สังเกตว่าปฏิกิริยา hydroxylation ของโมเลกุลรงควัตถุมีผลต่อความคงตัวของแอนโธไซยานินในไวน์ นอกจากนี้อิทธิพลของอุณหภูมิ กรดอะมิโน พีเอช มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงแอนโธไซยานิน (Skalski and Sistrunk, 1973)

ไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยง เมื่อผ่านการหมักและบ่มเสร็จสิ้นลง มีการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยแบบฟอร์มการให้คะแนนมาจาก Regency Institute ในประเทศออสเตรเลีย จากคะแนนของการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยงแต่ละหน่วยทดลองไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 4.3) โดยสีและความขุ่นใส ได้รับคะแนนเฉลี่ยระหว่าง 2.16 - 2.5 คะแนนจากคะแนนเต็ม 3 คะแนน แสดงว่าไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยงที่ได้มีคุณภาพด้านสีและความขุ่นใสที่ค่อนข้างดี ในด้านกลิ่นได้คะแนนเฉลี่ยระหว่าง 5.44 - 6.25 คะแนน จากคะแนนเต็ม 7 คะแนน แสดงว่าไวน์ที่ได้มีกลิ่นที่ยอมรับได้คือมีกลิ่นหอมของน้ำผึ้งกับ

สารระเหยต่างๆ ที่ได้จากการบ่ม รสชาติของไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยงได้รับคะแนนเฉลี่ย 6.88 - 7.5 คะแนน จากคะแนนเต็ม 10 คะแนน แสดงว่าไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยงทุกหน่วยการทดลองมีรสชาติที่กลมกล่อม ไวน์ที่ผลิตได้จัดเป็น dry wine เนื่องจากมีน้ำตาลรีดิวซ์ 0.3 - 0.5 กรัม/100 มล. (ตารางที่ค.18) ความกลมกล่อมแสดงถึงไวน์ที่มีความสมดุลย์ในด้านปริมาณกรด แอลกอฮอล์และน้ำตาล นอกจากนี้ไวน์ที่ได้มี body ค่อนข้างน้อยเนื่องจาก น้ำมะเกี๋ยงเป็นผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว จึงต้องมีการเจือจางด้วยน้ำมากเพื่อลดปริมาณกรดลง

ยีสต์แต่ละสายพันธุ์ไม่มีผลต่อความแตกต่างกันของไวน์น้ำผึ้งผสมมะเกี๋ยงทางด้านประสาทสัมผัส โดยสายพันธุ์ montrachet burgundy และ bayanus ได้คะแนนคุณภาพรวม 14.91, 15.16 และ 15.55 คะแนน จากคะแนนเต็ม 20 คะแนน ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4)

เมื่อพิจารณาปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำหมักเริ่มต้นพบว่าปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นที่ต่างกันมีผลต่อความแตกต่างกันในด้านกลิ่นของไวน์มะเกี๋ยงผสมน้ำผึ้ง (ตารางที่ 4.5) โดยที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 ได้คะแนน 5.54 คะแนน จาก 7 คะแนน ที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ได้คะแนน 6.04 คะแนน จาก 7 คะแนน เพราะในน้ำหมักที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 มีการผสมน้ำเพื่อปรับปริมาณกรดในน้ำมะเกี๋ยงน้อยกว่าในน้ำหมักที่มีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 จึงทำให้ไวน์ที่ได้มีกลิ่นหอมของมะเกี๋ยงมากกว่า

ดังนั้นเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการหมักและบ่ม คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส พบว่า เชื้อยีสต์สายพันธุ์ bayanus เป็นเชื้อยีสต์ที่มีประสิทธิภาพดีกว่าเชื้อยีสต์สายพันธุ์ montrachet และ burgundy เมื่อพิจารณาแอลกอฮอล์ ถึงแม้ว่าสายพันธุ์ burgundy สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงกว่าสายพันธุ์อื่นในช่วงแรก เมื่อถึงช่วงใกล้สิ้นสุดการหมักแอลกอฮอล์มีปริมาณไม่แตกต่างกัน ในด้านปริมาณกรดทั้งหมด กรดระเหย และกรดไม่ระเหย สายพันธุ์ bayanus สามารถผลิตได้น้อยกว่าสายพันธุ์อื่น โดยเฉพาะกรดระเหยที่ไม่ต้องการให้มีปริมาณมาก เพราะปริมาณที่เพิ่มขึ้นมากเกินไปแสดงถึงการปนเปื้อนในไวน์ การใช้น้ำตาลของยีสต์ 3 สายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาถึงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสายพันธุ์ bayanus มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเหลืออยู่ต่ำกว่าสายพันธุ์อื่นเล็กน้อย ด้านสารที่ให้คุณภาพทางประสาทสัมผัสสำคัญกับไวน์สายพันธุ์ bayanus สามารถสร้างกลีเซอรอลได้สูงสุด และสามารถสร้างเอสเทอร์ได้ใกล้เคียงกับสายพันธุ์ burgundy คุณลักษณะทางด้านสีไม่มีความแตกต่างกันเมื่อสิ้นสุดการบ่ม ที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 เป็นปริมาณกรดที่ดีที่สุด ถึงแม้ว่าการให้ปริมาณกรดทั้งหมด กรดระเหยและกรดไม่ระเหยมากกว่า แต่ปริมาณที่เกิดขึ้นต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ ยีสต์สามารถใช้น้ำตาลที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ได้ดีกว่าร้อยละ 0.5 ความคงตัวของสีที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ดีกว่าที่ปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.5 การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ถึงแม้ว่าแต่ละหน่วยทดลองไม่มีความแตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาในด้าน

กลิ่นที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ให้กลิ่นที่ดีกว่าปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.5 เมื่อพิจารณาทั้งด้านยีสต์ที่ใช้และปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นที่ดีที่สุด พบว่าที่ปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นร้อยละ 0.6 ยีสต์สายพันธุ์ bayanus ให้ผลการทดลองดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลทางด้านประสาทสัมผัส

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย