# โครงการ
# การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การพัฒนาเครื่องปรุงรสจากการหมักมะม่วงน้ำดอกไม้ตกเกรด
(Development of food seasoning from degrading Barracuda mango by fermentation)

ชื่อนิสิต นายทักษิณ ศรีธนกฤตาธิการ
นายพัสกร เงินเจริญ

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
ปีการศึกษา 2561

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the senior project authors' files submitted through the faculty.

# การพัฒนาเครื่องปรุงรสจากการหมักมะม่วงน้ำดอกไม้ตกเกรด


โดย

นายทักษิณ ศรีธนกฤตาธิการ

นายพัสกร เงินเจริญ

อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ ดร.ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา



รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประจำปีการศึกษา 2561

# Development of food seasoning from degrading Barracuda mango by fermentation

Taksin Srithanakrittathikarn

Phatsakon Ngrencharoen

Project Advisor

Assoc. Prof. Cheunjit Prakitchaiwattana , Ph.D.

A Report Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

For the Degree of Bachelor of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2018

**หัวข้องานวิจัย** การพัฒนาเครื่องปรุงรสจากการหมักมะม่วงน้ำดอกไม้ตกเกรด

**โดย** นายทักษิณ ศรีธนกฤตาธิการ

นายพัสกร เงินเจริญ

**สาขาวิชา** เทคโนโลยีทางอาหาร

**อาจารย์ที่ปรึกษา** รองศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา

**ปีการศึกษา** 2561

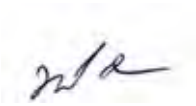
---

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อนุมัติให้รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

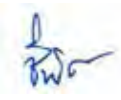
ประจำปีการศึกษา 2561



.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. ขนิษฐา ธนานุวงศ์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร



.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา)

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

**หัวข้องานวิจัย** การพัฒนาเครื่องปรุงรสจากการหมักมะม่วงน้ำดอกไม้ตกเกรด

**โดย** นายทักษิณ ศรีธนกฤตาธิการ

นายพัสกร เงินเจริญ

**สาขาวิชา** เทคโนโลยีทางอาหาร

**อาจารย์ที่ปรึกษา** รองศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา

**ปีการศึกษา** 2561

---

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ตกเกรดตามข้อกำหนดขั้นต่ำของ มกอช. มาพัฒนาเป็นเครื่องปรุงรสอาหารโดยใช้กระบวนการหมักเพื่อเพิ่มมูลค่า มะม่วงตกเกรดได้จากมะม่วงที่ยังมีสภาพดี แต่มีรอยช้ำหรือรอยขีดข่วนเกินข้อกำหนดขั้นต่ำ นำมาล้าง ปอกเปลือก หั่นและปั่นให้เป็นเนื้อมะม่วงปั่น (paste) นำไปเตรียมเป็นน้ำมะม่วงสำหรับหมัก โดยแปลอัตราส่วนระหว่างน้ำและเนื้อมะม่วงปั่นเป็น 1:1, 1:3 และ 3:1 (v/v) ตามลำดับ ปรับน้ำหมักให้มีค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH) โดยเติมกรดซิตริกให้อยู่ในช่วงประมาณ 3.5 ปรับปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (Total soluble solid, °Brix) ด้วยน้ำตาลทรายเป็น 22°Brix เติม $(NH_4)_2HPO_4$ 0.5 g/L และลดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ด้วย KMS 0.2 g/L ก่อนหมักด้วยยีสต์ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae.* Lalvin 71B, Lalvin QA23, Lalvin ICV D47, Lalvin EC-1118 และ Lalvin K1V-1116 หมักที่25 ° เป็นเวลา 11 วัน ประเมินคุณภาพการหมักเบื้องต้นทางประสาทสัมผัสแบบ Ranking test พบว่า น้ำมะม่วงอัตราส่วน 1:1 (v/v) หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ Lalvin EC-1118 ได้รับคะแนนด้านสีและกลิ่นสูงที่สุด จึงนำสภาวะดังกล่าวมาศึกษารูปแบบการหมัก ที่ขนาดการหมัก 2 ลิตร ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 14 วัน ติดตามการเจริญของยีสต์ (Population, CFU/mL) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณร้อยละของแข็งที่ละลายน้ำ (Total soluble solid, °Brix) และปริมาณแอลกอฮอล์ (%Alcohol) ระหว่างการหมักของน้ำหมักมะม่วง พบว่า ยีสต์จะเพิ่มจำนวนในวันที่ 2-5 และสร้างแอลกอฮอล์อย่างรวดเร็วในวันที่ 1-6 และคงที่ไปจนถึงวันที่ 14 น้ำหมักที่ได้มีค่า pH ประมาณ 3.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ 7.2°Brix และปริมาณแอลกอฮอล์ 10.5% เมื่อวิเคราะห์ปริมาณและชนิดกรดอินทรีย์และน้ำตาลด้วยวิธี HPLC พบว่าน้ำหมักประกอบด้วย กรดซิตริก (5.032±0.091 g/L) กรดซักซินิก (3.046±1.709 g/L) กรดอะซิตริก (1.951±0.005 g/L) และกรดมาลิก (0.597±0.313 g/L) มีน้ำตาลซูโครส (1.906±0.052 g/L) น้ำตาลฟรุกโตส (0.988±0.189 g/L) และน้ำตาลกลูโคส (0.571±0.005 g/L) นำน้ำหมักมะม่วงที่ได้ไปพัฒนาเป็นเครื่องปรุงรสที่มีความหวานสูง และปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำกลุ่มเดียวกับอะจิมิริน โดยการปรับ Total soluble solid เป็น 40°Brix และปริมาณแอลกอฮอล์ ให้ได้ 6% ด้วยการเติมสารให้ความหวาน 3 ชนิด ได้แก่ กลูโคสไซรัป ฟรุกโตสไซรัป และน้ำตาลมะพร้าว นำเครื่องปรุงรสที่ได้มาเตรียมในรูปของเม็ดบีดส์ด้วยเทคนิค Reverse Spherification สำหรับเติมในน้ำลิ้นจี่โซดา พบว่าน้ำหมักมะม่วงที่เติมฟรุกโตสไซรัป ได้รับคะแนนด้านสี กลิ่น รสชาติ สัมผัสและความชอบโดยรวมสูงสุด และมีความชอบด้านกลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

| | |
|---|---|
| **Project Title** | Development of food seasoning from degrading Barracuda mango by fermentation |
| **Student** | Taksin Srithanakrittathikarn |
| | Phatsakon Ngrencharoen |
| **Student Program** | Bachelor of Science in Food Technology |
| **Advisor** | Assoc. Prof. Cheunjit Prakitchaiwattana , Ph.D. |
| **Academic Year** | 2018 |


**ABSTRACT**

The purpose of this study is to develop seasoning from degrading Barracuda mango according to ACFS Standard by using fermentation for adding value. Degrading mango come from good condition mango but have some bruises or scratches over minimum standard. Washing, peeling, cutting and blending are required to make mango paste. Mixing water and mango paste with the ratio 1:1, 1:3 and 3:1 (v/v) respectively to make mango juice. Adjusted mango juice pH around 3.5 by using Citric acid, Total soluble solid (TSS) to be 22°Brix by using cane sugar, added $(NH_4)_2HPO_4$ 0.5 g/L and reduced microorganism by using KMS 0.2 g/L before fermentation with yeast 5 strains include *Saccharomyces cerevisiae.* Lalvin 71B, Lalvin QA23, Lalvin ICV D47, Lalvin EC-1118 and Lalvin K1V-1116 and fermented at 25 °C for 11 days. Evaluated fermented mango juice fermentation initial quality with ranking test. The result showed that fermented mango juice ratio 1:1 (v/v) fermented with yeast strain Lalvin EC-1118 got the highest color and odor scores. Study the best fermentation condition in 2 liters fermentation size at 25°C for 14 days. Tracked the yeast growth (Population, CFU/mL), pH, TTS and alcohol content. The result showed that yeast increased in day 2-5 and alcohol increased rapidly in day 1-6 and maintain alcohol level until day 14, pH is around 3.5, TTS decreased to 7.2°Brix and alcohol content increased to 10.5%. After analyzed sugar content and organic matter content with HPLC showed that fermented mango juice was included Citric acid (5.032±0.091 g/L), Succinic acid (3.046±1.709 g/L), Acetic acid (1.951±0.005 g/L) and Malic acid (0.597±0.313 g/L). For sugar content included Sucrose (1.906±0.052 g/L), Fructose (0.988±0.189 g/L) and Glucose (0.571±0.005 g/L). Developing fermented mango juice to be sweet seasoning with low alcohol content same as Aji-mirin. Adjusting TTS by adding glucose syrup, fructose syrup and coconut sugar to be 40°Brix with 6% alcohol. Prepared seasoning in beads form by Reverse spherification technique and put in Lychee soda water. The result showed that fermented mango juice mixed with fructose syrup got the highest color, odor, taste, texture and overall preference score. The odor, taste and overall preference score are significantly different from the other.

**กิตติกรรมประกาศ**

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจากรองศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยที่ได้ให้คำเสนอแนะ แนวคิด ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ มาโดยตลอด จนงานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ ผู้ทำงานวิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และผู้ปกครอง ที่ให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือในเรื่องต่างๆ รวมทั้งเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และคำเสนอแนะต่างๆ มาโดยตลอด

ขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือตลอดมา รวมทั้งสละเวลาสอนใช้เครื่องมือปฏิบัติการต่างๆ

ขอบคุณพี่ปริญญาโทที่สละเวลาให้คำแนะนำ และความช่วยเหลือในด้านต่างๆ

ขอบคุณเพื่อนๆ ที่คอยเป็นที่ปรึกษา และให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ เกี่ยวกับงานวิจัยนี้

คณะผู้จัดทำ

**สารบัญ**


หน้า

**บทที่ 1 บทนำ** **1**

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ 1

1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย 1

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

**บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** **3**

2.1 ไวน์ 3

2.2 กระบวนการหมักไวน์ 3

2.3 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมักไวน์ 6

2.3.1 คาร์บอนและแหล่งพลังงาน 6

2.3.2 แอลกอฮอล์ 6

2.3.3 สารประกอบไนโตรเจน 7

2.3.4 ไขมัน 7

2.3.5 ฟีนอล 8

2.3.6 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 8

2.3.7 ออกซิเจนและการเติมอากาศ 8

2.3.8 คาร์บอนไดออกไซด์และความดัน 9

2.3.9 ความเป็นกรด-ด่าง(pH) 9

2.3.10 วิตามิน 9

2.3.11 สารประกอบอนินทรีย์ 10

2.3.12 อุณหภูมิ 10

2.3.13 สารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้าง 10

2.3.14 การติดขัดของการหมัก 10
2.4 มะม่วง 10
2.4.1 มะม่วงน้ำดอกไม้ 11
2.5 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 12
2.5.1 แคโรทีนอยด์ 13
2.6 การตรวจสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 13
2.7 เครื่องปรุงรสจากการหมัก 13
2.7.1 น้ำส้มสายชู(Vinegar) 14
2.7.2 เครื่องปรุงรสจากการหมักแอลกอฮอล์ (cooking wine) 14
2.7.2.1 มิริน 15
2.7.2.2 คาห์ลัว 15
2.5.2.3 เหล้าจีน 15
2.8 เม็ดบีดส์ 16
2.9 Reverse Spherification 16
**บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย** **17**
3.1 ขั้นตอนคัดเกรดมะม่วง 17
3.2 อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี 17
3.2.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ 17
3.2.2 สารเคมี 17
3.3 วิธีการทดลอง 18
3.3.1 ประเมินสภาวะการหมักมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยยีสต์ 18
3.3.1.1 ยีสต์ 18
3.3.1.2 การเตรียมน้ำมะม่วงในการทดลอง 18
3.3.1.3 การเตรียมน้ำมะม่วงพร้อมหมัก 20

3.3.1.4 การเตรียม starter 21

3.3.1.5 การหมักน้ำมะม่วง 22

3.3.2 ศึกษารูปแบบการหมักเพื่อผลิตน้ำหมักสำหรับทำเครื่องปรุงรส 23

3.3.3 พัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรส 23

3.3.3.1 การเพิ่มค่า TSS และลดปริมาณแอลกอฮอล์ 23

3.3.4 แนวทางการใช้เครื่องปรุงรสมะม่วง 24

3.3.4.1 การทำเม็ดบีดส์ 24

3.3.4.2 ทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์โดยนำเม็ดบีทใส่ลงในเครื่องดื่มลิ้นจี่โซดา 25

3.3.4.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ 25

**บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 26**

4.1 ประเมินสภาวะการหมักมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยยีสต์ 26

4.2 ศึกษารูปแบบการหมักเพื่อผลิตน้ำหมักสำหรับทำเครื่องปรุงรส 29

4.3 แนวทางการใช้เครื่องปรุงรสมะม่วง 33

4.4 การยอมรับทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่ม 33

**บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย 35**

5.1 ประเมินสภาวะการหมักมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยยีสต์ 35

5.2 ศึกษารูปแบบการหมักเพื่อผลิตน้ำหมักสำหรับทำเครื่องปรุงรส 35

5.3 การยอมรับทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่ม 35

**บรรณานุกรม 36**

**ภาคผนวก 39**

**ประวัติผู้วิจัย 50**

**สารบัญตาราง**

หน้า

ตารางที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักน้ำมะม่วงที่มีการปรับค่าความเข้มข้นของน้ำมะม่วงเริ่มต้น 26
ตารางที่ 4.2 ปริมาณแอลกอฮอล์หลังยุติการหมักเมื่อหมักได้ 11 วัน 28
ตารางที่ 4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH) หลังการหมัก 14 วัน 31
ตารางที่ 4.4 ชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์และน้ำตาลในไวน์มะม่วง 32
ตารางที่ 4.5 คะแนนทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่ม 33

**สารบัญรูปภาพ**

หน้า

รูปที่ 2.1 ขั้นตอนพื้นฐานในการผลิตไวน์ 4
รูปที่ 2.2 มะม่วงน้ำดอกไม้ 12
รูปที่ 3.1 การเตรียมน้ำมะม่วง 19
รูปที่ 3.2 การเตรียมน้ำมะม่วงพร้อมหมัก 20
รูปที่ 3.3 การเตรียม Starter 21
รูปที่ 3.4 การหมักน้ำมะม่วง 22
รูปที่ 3.5 การปรุงน้ำหมักมะม่วง 23
รูปที่ 3.6 การทำเม็ดบีดส์เครื่องปรุงรสด้วยวิธี reverse spherification 24
รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักน้ำมะม่วงโดยใช้ยีสต์ Saccharomyces cerevisiae สายพันธุ์ Lalvin EC-1118ที่มีค่า TSS เริ่มต้น 22 °Brix หมักที่อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน 30
รูปที่ 4.2 ขนาดเม็ดบีดส์ที่ผสมสารให้ความหวาน (1)กลูโคสไซรัป ด้านยาว (2)กลูโคสไซรัป ด้านกว้าง (3)ฟรุกโตสไซรัป ด้านยาว (4)ฟรุกโตส ด้านกว้าง (5)น้ำตาลมะพร้าว ด้านยาว (6)น้ำตาลมะพร้าว ด้านกว้าง 33
รูปที่ ผ.1 จานอาหารวุ้น YM 40
รูปที่ ผ.2 กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ตัวอย่างที่ 1 44
รูปที่ ผ.3 กราฟผลการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ตัวอย่างที่ 1 44
รูปที่ ผ.4 กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ตัวอย่างที่ 2 45
รูปที่ ผ.5 กราฟผลการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ตัวอย่างที่ 2 45
รูปที่ ผ.6 กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์น้ำตาลตัวอย่างที่ 1 46
รูปที่ ผ.7 กราฟผลการวิเคราะห์น้ำตาลตัวอย่างที่ 1 46
รูปที่ ผ.8 กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์น้ำตาลตัวอย่างที่ 2 47
รูปที่ ผ.9 กราฟผลการวิเคราะห์น้ำตาลตัวอย่างที่ 2 47

# บทที่ 1 บทนำ

## 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

มะม่วงเป็นหนึ่งในผลไม้เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีการส่งออกไปยังประเทศต่างๆ ทั่วโลก จากข้อมูลสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรในปี 2561 รายงานว่าประเทศไทยมีการส่งออกมะม่วงถึง 94 ล้านกิโลกรัม คิดเป็นมูลค่าการส่งออกถึง 4.4 พันล้านบาท โดยหนึ่งในสายพันธุ์มะม่วงที่ได้รับความนิยมคือ มะม่วงน้ำดอกไม้

มะม่วงน้ำดอกไม้ (Golden Mango/Yellow Mango) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Mangifera indica Linn.* อยู่ในวงศ์ Anacardiaceae เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ มีดอกเป็นช่อสีขาวนวล ผลมีลักษณะทรงรี โคนมนปลายรีเปลือกบาง ผลอ่อนมีเปลือกสีเขียว เนื้อสีขาว รสชาติเปรี้ยว ผลสุกเปลือกจะมีสีเหลือง เนื้อสีเหลือง มีเนื้อแน่น มีกลิ่นหอม และมีรสชาติหวานฉ่ำ

มะม่วงน้ำดอกไม้เป็นผลไม้ราคาแพง นิยมรับประทานผลสุกมากกว่าผลดิบ ซึ่งพบว่าผลสุกสามารถเกิดการช้ำและรอยขีดข่วนได้ง่าย ทำให้มีลักษณะที่ไม่ผ่านมาตรฐานหรือตกเกรดการส่งออก ส่งผลให้มะม่วงน้ำดอกไม้มีราคาต่ำกว่าที่ควรจะเป็น ทางผู้จัดทำโครงงานจึงมีแนวคิดที่จะแปรรูปมะม่วงน้ำดอกไม้เป็นวัตถุปรุงแต่งอาหารจากธรรมชาติที่อ้างอิงคุณสมบัติเครื่องปรุงรสจากอาจิ มิริน โดยใช้มะม่วงน้ำดอกไม้เป็นวัตถุดิบหลัก หมักให้เกิดแอลกอฮอล์และกลิ่นรสที่ดีขึ้นด้วยยีสต์ *Saccharomyces* แล้วนำไปพัฒนาต่อให้เป็นเครื่องปรุงรสอาหาร เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับมะม่วงน้ำดอกไม้ที่ตกเกรดการส่งออก อีกทั้งยังคงคุณค่าทางอาหาร และรสชาติของมะม่วงน้ำดอกไม้ไว้

## 1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษากระบวนการหมักมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยยีสต์
2. เพื่อพัฒนาเครื่องปรุงรสจากน้ำมะม่วงน้ำดอกไม้หมัก
3. เพื่อประเมินแนวทางการใช้เครื่องปรุงที่ได้ และการยอมรับทางประสาทสัมผัส

## 1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาตามวัตถุประสงค์ข้างต้น โดยผลไม้ในการศึกษาคือมะม่วงน้ำดอกไม้ตกเกรด และแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ตอน ได้แก่ ตอนที่ 1 ประเมินสภาวะการหมักมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยยีสต์ โดยกำหนดตัวแปรต้น คือสายพันธุ์ยีสต์ และอัตราส่วนเนื้อมะม่วงต่อน้ำ ตัวแปรควบคุม คือ สายพันธุ์มะม่วง อุณหภูมิ

ระยะเวลาการหมัก ปริมาณยีสต์เริ่มต้น ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น และค่าของแข็งการละลายน้ำเริ่มต้น และติดตามผลโดยมีตัวแปรตาม คือปริมาณแอลกอฮอล์ด้วย Vinometer ค่าของแข็งการละลายน้ำที่เปลี่ยนไปด้วย Refractometer และประเมินสีและกลิ่นด้วยวิธี Sensory test ตอนที่ 2 ศึกษารูปแบบการหมักเพื่อผลิตน้ำหมักสำหรับทำเครื่องปรุงรส โดยกำหนดตัวแปรต้น คือปริมาณน้ำมะม่วง ตัวแปรควบคุม คือ สายพันธุ์ยีสต์ อัตราส่วนเนื้อมะม่วงต่อน้ำ อุณหภูมิการหมัก ระยะเวลาการหมัก ปริมาณยีสต์เริ่มต้น ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น และค่าของแข็งการละลายน้ำเริ่มต้นและติดตามผลโดยมีตัวแปรตาม คือปริมาณแอลกอฮอล์ด้วย Vinometer ค่าของแข็งการละลายน้ำที่เปลี่ยนไปด้วย Refractometer ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนไปด้วยpH meter และปริมาณยีสต์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้น YM และ ตอนที่ 3 พัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรส โดยกำหนดตัวแปรต้น คือชนิดน้ำตาล ตัวแปรควบคุม คือ ความเข้มข้นน้ำตาล ปริมาณแอลกอฮอล์ และปริมาณน้ำหมักมะม่วง และติดตามผลโดยมีตัวแปรตามคือ ประเมินสี กลิ่น และรสชาติด้วยวิธี Sensory test โดยงานวิจัยนี้ใช้ระยะเวลาในการศึกษา 1 ปีการศึกษา

**1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

1. เพิ่มมูลค่าทางการตลาดให้แก่มะม่วงน้ำดอกไม้ตกเกรด
2. เพิ่มตัวเลือกของเครื่องปรุงรสให้มีความหลากหลายมากขึ้น

# บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 ไวน์

ไวน์เป็นเครื่องดื่มที่เก่าแก่และมีประวัติศาสตร์ที่ยาวนานโดยพบหลักฐานทางประวัติศาสตร์ว่า ไวน์ถูกคิดค้นขึ้นเมื่อ 6,000 ปีก่อนคริสตกาลที่ประเทศจอร์เจีย ไวน์ได้ถูกผลิตขึ้นโดยมนุษย์ตั้งแต่อดีต ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมาไวน์ไม่ได้เป็นเพียงแค่เครื่องดื่มแต่ยังเป็นส่วนหนึ่งของประวัติศาสตร์ เนื่องจากมีนักกวีหรือนักปราชญ์หลายคนมักนำไวน์เข้าไปมีส่วนเกี่ยวข้องกับงานเขียนและบทประพันธ์อยู่เสมอ จึงทำให้ไวน์เป็นเครื่องดื่มที่มีการยอมรับทั่วไปใน

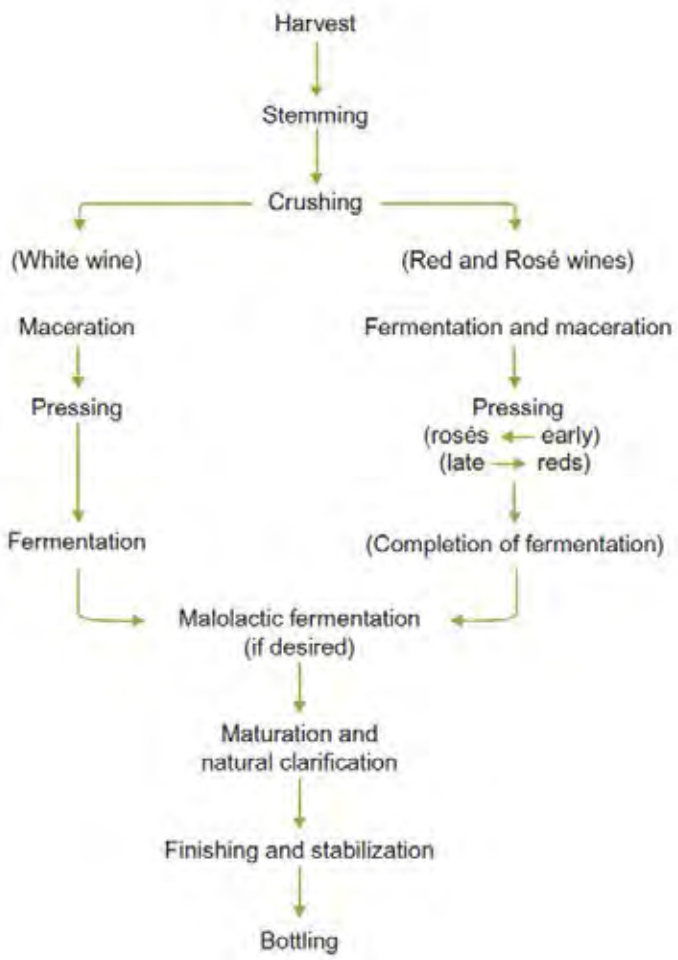
ไวน์เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการหมักน้ำองุ่นแบบ100% หรือเกิดจากการหมักน้ำองุ่นผสมวัตถุดิบอื่น นอกจากนี้อาจนำผลไม้ เช่น แอปเปิ้ล, พลัม, พีช, เบอร์รี่, สตรอเบอร์รี่, เชอรี่, ลูกเกด, แอปริคอท และอื่นๆ นำมาใช้ในการทำไวน์เรียกว่า ไวน์ผลไม้ ไวน์ผลไม้เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์หมักที่มีความหลากหลาย ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการทำ นอกจากผลไม้ต่างๆที่สามารถนำมาใช้ทำไวน์ได้แล้ว พืชชนิดต่างๆก็สามารถนำมาใช้ทำไวน์ได้เช่นกัน ขอเพียงแค่พืชชนิดนั้นสามารถหมักได้ (วิทวัส ขวัญเมือง, 2557)

ไวน์ผลไม้ทำได้โดยการนำผลไม้ไปหมักโดยใช้ยีสต์และบ่มไว้ในถังไม้ เพื่อเพิ่มคุณภาพด้านรสชาติและกลิ่น ไวน์ผลไม้โดยทั่วไปจะมีส่วนประกอบของ เอทิลแอลกอฮอล์, น้ำตาล, กรด, แอลกอฮอล์อื่นๆ, แทนนิน, แอลดีไฮด์, เอสเตอร์, กรดอมิโน, เกลือแร่, วิตามิน, แอนโทรไซยานิน และสารที่ให้รสและกลิ่นต่างๆ ไวน์ที่ทำจากผลไม้ที่ใช้การหมักและไม่นำไปกลั่น ไวน์ที่ได้จะยังรักษาสารอาหารส่วนใหญ่ไว้ได้เหมือนกับน้ำผลไม้ก่อนการหมัก (Joshi, Panesar, Rana and Kaur., 2017)

ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus* เป็นจุลลินทรีย์ที่มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตไวน์หรือเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดอื่นๆ ในกระบวนการทำไวน์จะมีความพิเศษในด้านกายภาพ, ด้านเคมี และด้านชีวภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านจุลชีววิทยาและชีวเคมี ซึ่งจะช่วยส่งเสริมคุณภาพไวน์ให้ดีขึ้น (สุราไทย, 2553)

## 2.2 กระบวนการหมักไวน์

กระบวนการหมักไวน์เริ่มต้นอย่างเป็นทางการเมื่อองุ่นหรือน้ำผลไม้ได้ถึงโรงงานแล้ว ขั้นตอนพื้นฐานในการผลิตไวน์เป็นไปตามรูปที่ 2.1




รูปที่ 2.1 ขั้นตอนพื้นฐานในการผลิตไวน์

ขั้นตอนแรกคือการนำเอาใบไม้และวัตถุต่างๆที่ติดมากับผลไม้ออก จากนั้นองุ่นจะถูกนำไปคั้นหรือบีบเพื่อนำน้ำองุ่นออกมา อาจมีการแช่หมัก (maceration) เพื่อสกัดสารอาหาร สารให้สี และส่วนประกอบต่างๆ จากเปลือกและผิวออกมา กระบวนการหมักเริ่มต้นโดยเอนไซม์ไฮโดรไลติกที่ถูกปลดปล่อยออกจากเซลล์ที่แตกทำให้เป็นเอนไซม์อิสระ สารพิษจากเอนไซม์เพคติคจะทำหน้าที่ปลดปล่อยองค์ประกอบต่างๆในเซลล์ลงในน้ำหมัก (must) เอนไซม์ที่ถูกปลดปล่อยหรือถูกกระตุ้นโดยเซลล์ที่ตายจะช่วยสังเคราะห์สารให้กลิ่นรสและไฮโดรไลท์สารที่มีขนาดใหญ่ให้อยู่ในรูปที่ยีสต์และแบคทีเรียสามารถนำไปใช้งานได้

ในไวน์ขาวการแช่หมักจะถูกควบคุมให้เกิดน้อยที่สุดและจะไม่ให้นานเกิน 2-3 ชั่วโมง น้ำองุ่นที่ไหลออกมาเองจากองุ่นที่ถูกทำให้แตกแล้ว (free run) มักจะอยู่รวมกับน้ำส่วนที่ถูกบีบ แต่เนื่องจากลักษณะที่แตกต่างกันระหว่าง free run และน้ำองุ่นที่ได้จากการบีบครั้งแรก จึงทำให้ 2 ส่วนนี้จะอยู่แยกชั้นกัน และจะรวมตัวกันอีกครั้งเมื่อเกิดกระบวนการหมัก (fermentation) ในส่วนของน้ำองุ่นที่เกิดจากการบีบในครั้งหลังมักจะนำไปหมักแยก

ต่างหาก เพื่อไม่ให้ free run และองุ่นที่ได้จากการบีบครั้งแรกมีปริมาณแทนนินสูงเกินไป นอกจากนี้ยังช่วยลดการเกิดสารไม่ให้กลิ่น (off-ordors) เหมือนในองุ่นสายพันธุ์ Sauvignon blanc

สำหรับไวน์แดงกระบวนการแช่หมักจะมีระยะเวลาที่ยาวนานกว่าและเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องไปพร้อมกับกระบวนการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ แอลกอฮอล์ที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของยีสต์จะช่วยในการสกัดสารแอนโทไซยานินและช่วยในการดูดซึมสารแทนนินจากเมล็ด สารประกอบฟีนอลิกที่ละลายอยู่จะเป็นตัวทำให้ไวน์แดงมีคุณสมบัติพื้นฐานในด้านลักษณะปรากฏ รสชาติ และกลิ่นรส ทำให้เกิดสมบัติในการบ่มและทำให้ไวน์แดงมีรสชาติกลมกล่อม นอกจากนี้เอทานอลยังช่วยในการละลายของสารให้กลิ่นต่างๆ ที่อยู่ในเปลือกและผิวองุ่นอีกด้วย หลังจากที่เริ่มหมักหมักได้บางส่วนหรือเสร็จสิ้นกระบวนการหมักแล้ว free run จะแยกตัวออกมาจากกากองุ่น (pomace) น้ำองุ่นที่ได้จากการบีบในครั้งหลังจะสกัดเอาส่วนที่เป็นน้ำออกมารวมกับส่วนที่เป็น free run โดยสัดส่วนจะขึ้นกับความต้องการของผู้ผลิตไวน์ ชนิดไวน์และสไตล์ไวน์ที่ต้องการ

ไวน์โรเซ่โดยปกติทำมาจากองุ่นแดงที่สัมผัสกับน้ำในกระบวนการแช่หมัก องุ่นจะถูกนำไปบีบหรือทำให้แตกอย่างนุ่มนวล และน้ำองุ่นจะถูกปล่อยให้สัมผัสกับกากที่อุณหภูมิที่เย็นจนกว่าจะสกัดสีออกมาอย่างเพียงพอ (โดยปกติใช้เวลาประมาณ 12 ถึง 24 ชั่วโมง) น้ำองุ่นส่วนที่เป็น free run จะถูกแยกออกมาและนำไปหมักด้วยวิธีคล้ายกับไวน์ขาว อีกวิธีหนึ่งคือนำองุ่นทั้งหมดมาทำการบีบ แต่การทำเช่นนี้จะทำให้สีของน้ำองุ่นจาง เนื่องจากน้ำองุ่นส่วนที่เป็น free run และน้ำองุ่นบางส่วนที่ได้จากการบีบครั้งแรกจะหมักโดยไม่มีผิวและเมล็ดองุ่น จึงอาจมีการบีบผลองุ่นให้แตกและหมักพร้อมกับกากจนมีสีที่เหมาะสม การหมัก free run ในครั้งต่อไปจะไม่มีการสัมผัสกับกากอีก ความเข้มของสีไวน์จะถูกนำมาใช้เป็นตัวกำหนดระยะเวลาในการบีบคั้น จึงมี 2 สิ่งที่ต้องพิจารณาควบคู่ไปด้วยคือ การสูญเสียสีผิว (มีความสัมพันธ์กับสิ่งที่แนบมากับยีสต์และการตกตะกอนของยีสต์) และการฟอกสีของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เนื่องจากกระบวนการแช่หมักของไวน์โรเซ่สั้น ดังนั้นกระบวนการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์จะเริ่มอย่างจริงจังเมื่อเกิดการแยกชั้นระหว่างน้ำองุ่นและกาก

กระบวนการหมักจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องจากยีสต์ที่มีอยู่แล้วบนตัวองุ่นและอุปกรณ์ในโรงงานไวน์ อย่างไรก็ตามมาตรฐานการผลิตไวน์ในปัจจุบันนิยมเติมยีสต์ที่ทราบคุณสมบัติ 1-2 สายพันธุ์ในการใช้หมักน้ำองุ่น ยีสต์ไม่ใช่แค่ช่วยในการผลิตแอลกอฮอล์ แต่ยังช่วยในการสร้างกลิ่นหอมและกลิ่นรสที่เป็นลักษณะเฉพาะของไวน์ด้วยเช่นกัน

หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ ไวน์จะเกิดกระบวนการหมักขั้นทุติยภูมิคือกระบวนการหมักแบบ malolactic ซึ่งเป็นขั้นตอนที่มีประโยชน์อย่างมากในประเทศแถบที่มีอากาศเย็น เนื่องจากกระบวนการนี้ช่วยลดความเป็นกรดของไวน์ลง ทำให้ไวน์มีรสชาติที่ดีขึ้น แม้ว่าไวน์แดงส่วนมากจะผ่านกระบวนการหมักแบบ malolactic แต่ไวน์ขาวมักไม่ค่อยได้ประโยชน์จากกระบวนการนี้ เนื่องจากไวน์ขาวจะมีกลิ่นหอมแบบเบาบาง จึงทำให้มีความว่องไวต่อการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นรสที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักแบบ

malolactic นอกจากนี้ความเป็นกรดยังเป็นตัวช่วยเพิ่มรสชาติสดชื่นในไวน์ขาวอีกด้วย ในประเทศเขตภูมิอากาศอบอุ่น กระบวนการหมักแบบ malolactic มักไม่เป็นที่ต้องการด้วยเช่นกัน กระบวนการนี้สามารถชะลอได้ด้วยวิธีต่างๆ เช่น การเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์, การทำใสเบื้องต้น และการเก็บไว้ในอุณหภูมิต่ำ

หลังจากผ่านการบ่มเป็นระยะเวลาหลายสัปดาห์หรือหลายเดือน ไวน์จะเกิดการตกตะกอน ขั้นตอนนี้จะแยกไวน์ออกจากของแข็งที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการทำให้ใส ตะกอนที่ตกลงก้นขวดประกอบไปด้วยยีสต์ แบคทีเรีย เศษองุ่น แทนนิน โปรตีน และคริสตัลโพแทสเซียมทาร์เทรต ถ้าปล่อยตะกอนเหล่านี้ให้สัมผัสกับไวน์ จะทำให้เกิดการผลิตสารระงับกลิ่นกลิ่นไวน์ได้ และยังเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสียได้

ก่อนการบรรจุลงขวดต้องนำไวน์ไปทำใสก่อน เพื่อนำโปรตีนที่ละลายน้ำและวัตถุอื่นๆออก ไม่เช่นนั้นสารต่างๆเหล่านี้จะทำให้ไวน์มีความขุ่น และยิ่งขุ่นขึ้นเมื่อโดนความร้อน การทำใสยังเป็นการทำให้รสชาติไวน์ละมุนขึ้นจากการกำจัดแทนนินส่วนเกินออก จากนั้นไวน์จะถูกเก็บที่อุณหภูมิต่ำและนำไปกรอง จากนั้นจะเข้าสู่กระบวนการทำใสและเพิ่มความคงตัวของไวน์ต่อไป

ในกระบวนการบรรจุขวด มักจะมีการเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ปริมาณเล็กน้อยลงไปในไวน์เพื่อเป็นการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันและจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสีย (เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการทำงานจะใส่ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ประมาณ 0.8-1.5 มล./ลิตร) ในไวน์หวานจะมีกระบวนการกรองกำจัดเชื้อเพิ่มเติม เพื่อป้องกันจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสีย(Ronald, 2014)

## 2.3 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมักไวน์

### 2.3.1 คาร์บอนและแหล่งพลังงาน

แหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานหลักในการหมักคือกลูโครสและฟรุกโตส ทั้งนี้ยังมีการใช้พลังงานจากแหล่งสารอาหารอื่นแต่มีการใช้ในปริมาณที่น้อยมาก น้ำตาลซูโครสก็สามารถใช้ในการหมักได้เช่นกัน แต่มักพบได้น้อยในองุ่น จึงต้องอาศัยการเติมน้ำตาลซูโครสลงไปแทน เมื่อเติมซูโครสลงไปจะเกิดการไฮโดรไลซิสเป็นกลูโครสและฟรุกโตส ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นยีสต์ไม่สามารถนำมาใช้ในการหมักได้ เนื่องจากยีสต์ขาดเอนไซม์หรือโปรตีนที่สามารถนำน้ำตาลเหล่านั้นมาใช้ได้และน้ำตาลเหล่านั้นยังเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ที่ทำให้เน่าเสียได้

### 2.3.2 แอลกอฮอล์

แอลกอฮอล์ทุกชนิดมีความเป็นพิษมากหรือน้อยแตกต่างกัน ซึ่งยีสต์มีความไวต่อความเป็นพิษของแอลกอฮอล์เป็นอย่างมาก มีความพยายามมากมายในการทำความเข้าใจถึงความเป็นพิษโดยธรรมชาตินี้และการการแตกตัวของยีสต์ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นสูง ซึ่งพบว่ามีหลายปัจจัยที่มีความเกี่ยวข้องกับการแพ้แอลกอฮอล์

ซึ่งรวมถึงการกระตุ้นกระบวนการสังเคราะห์กลีเซอรอลและทรีฮาโลส เกิดการสะสมของ Hsp104 (โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความเครียด) และ Hsp12 รวมถึงเกิดการเปลี่ยนแปลงของพลาสมาเมมแบรน เช่น เกิดการกระตุ้น membrane ATPase, การแทนที่ลาโนสเตอรอลด้วยเออร์โกสเตอรอล การเพิ่มสัดส่วนระหว่าง phosphatidyl inositol และ phosphatidyl choline และการเพิ่มการรวมตัวของกรดปาล์มิติก การเปลี่ยนแปลงของเมมแบรนเหล่านี้ทำให้ลดการซึมผ่านของเซลล์ ลดการสูญเสียสารอาหารและสารที่เป็นปัจจัยร่วมต่างๆของเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแมกนีเซียมและแคลเซียม ทำให้ส่งผลกระทบต่อศักยภาพการรีดอกซ์ของเซลล์โดยกระตุ้นการเพิ่มขึ้นของอะเซตัลดีไฮด์ (เพิ่มปริมาณ $NAD^+$) แวคิวโอลเมมแบรนมีความสำคัญ เนื่องจากสามารถกักเก็บสารพิษไว้ภายในได้ นอกจากนี้แอทานอลยังรบกวนการทำงานของเมมแบรนโดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บางตัว ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง

**2.3.3 สารประกอบไนโตรเจน**

นอกจากน้ำตาล สารประกอบไนโตรเจนก็เป็นสารอาหารที่สำคัญสำหรับยีสต์ น้ำหมักต้องมีปริมาณไนโตรเจนที่เพียงพอในการหมัก จากการทดสอบในแคลิฟอร์เนียพบว่าปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสมมีช่วงที่กว้างคือระหว่าง 60 – 2400 มก./ลิตร เพราะองุ่นบางสายพันธุ์มีปริมาณไนโตรเจนน้อยกว่าสายพันธุ์อื่นๆ เช่น ชาร์ดอเน, โคลอมบาร์ด เป็นต้น

ไนโตรเจนไม่เพียงแต่เป็นสิ่งสำคัญในการเป็นส่วนประกอบในโครงสร้าง การขนส่งสาร และเอนไซม์ (โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการเจริญเติบโตและการะบวนการเมตาบอลิซึม) แต่ยังเป็นองค์ประกอบสำคัญในการเป็นข้อมูลลำดับเบสของโมเลกุล (กรดนิวคลีอิก) และเป็นองค์ประกอบในกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอน ความสำคัญของไนโตรเจนในกระบวนการสังเคราะห์สามารถสังเกตได้จากการทำงานอย่างรวดเร็วของโปรตีนขนส่งน้ำตาล โมเลกุลของไนโตรเจนมีครึ่งชีวิต 6 ชั่วโมง การผลิตกลิ่นกำมะถันที่ลดลงจะเริ่มเกิดขึ้นหลังจากไนโตรเจนเริ่มหมดลง

**2.3.4 ไขมัน**

ไขมันเป็นองค์ประกอบพื้นฐานของผนังเซลล์ (ฟอสโฟลิปิดและสเตอรอล) ทำหน้าที่ในการเป็นแหล่งพลังงานสำรอง (น้ำมัน) เป็นสารให้สี (แคโรทีนอยด์) เป็นองค์ประกอบของโปรตีน(ลิโพโปรตีน) และคาร์โบไฮเดรต (ไกลโคโปรตีน)

ยีสต์สามารถสังเคราะห์ไขมันได้ด้วยตัวเองเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจน แต่จะไม่สามารถสังเคราะห์ไขมันสายยาว ไขมันไม่อิ่มตัว และสเตียรอลได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน แต่ในไวน์แดงจะไม่เห็นความแตกต่างนี้อย่างชัดเจน เนื่องจากมีปริมาณสารตั้งต้นจากกากองุ่นในปริมาณที่จำกัด อย่างไรก็ตามในการสังเคราะห์ไขมันในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะทำให้เกิดการหมักที่ช้าในน้ำองุ่นขาวที่ผ่านการทำการทำใสมาแล้ว กระบวนการทำใสสามารถนำสารประกอบกรดไขมันออกได้มากกว่า 90% โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัว ได้แก่ โอเลอิก, ลิโนเลอิก และลิโนเล

นิก สเตียรอลเองก็ถูกนำออกไปด้วยเช่นกัน แต่ยีสต์ยังคงมีสารอาหารสำคัญที่เพียงพอต่อการเริ่มต้นการหมักและใช้ในการแบ่งเซลล์ได้หลายรอบ (โดยปกติสามารถแบ่งเซลล์ได้ 4-5 รอบ) อย่างไรก็ตามในกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง ยีสต์สามารถแบ่งตัวได้ถึง 16 รอบก่อนจะถึงระยะคงจำนวนเซลล์ตามปกติ ดังนั้นการขาดสเตียรอลและกรดไขมันไม่อิ่มตัว ทำให้การเกิดลดลงอย่างรุนแรงของเอทานอลในการดูดซึมกลูโคส ส่งผลให้การหมักเกิดการติดขัด

**2.3.5 ฟีนอล**

สารฟีนอลิกต่างๆ ในน้ำหมักสามารถส่งผลได้หลากหลายในกระบวนการหมัก ในองุ่นแดงแอนโทไซยานินจะเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการหมัก แต่โปรแอนโทไซยานิดินในองุ่นขาวสามารถทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งได้เล็กน้อย สารประกอบฟีนอลิกยังเป็นตัวกำหนดกระบวนการสร้างฟิล์มในเชอร์รี่แบบฟิโน (*fino* sherry) ฟีนอลบางชนิดโดยเฉพาะเอสเตอร์ของกรดแกลลิกจะมีความเป็นพิษ แต่ฟีนอลบางตัว เช่น กรดคลอโรจีนิก และกรดไอโซคลอโรจีนิก จะช่วยในการหมัก ในกรณีของสปาร์คกลิ้งไวน์ ฟีนอลสามารถยับยั้งกระบวนการเมทาบอลิซึมของยีสต์ได้ จึงเป็นเหตุผลว่าทำไมสปาร์คกลิ้งไวน์จากไวน์แดงจึงไม่สามารถใช้วิธีมาตรฐานในการผลิตได้

**2.3.6 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์**

ซัลเฟอร์ไดออกไซด์เป็นหนึ่งในวัตถุเจือปนในอาหารที่มักจะเติมใส่ในไวน์ อย่างไรก็ตามซัลเฟอร์ไดออกไซด์ยังเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตกรดอะมิโนของยีสต์ด้วยเช่นกัน โดยส่วนใหญ่ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ผลิตจากยีสต์มักจับกับสารประกอบอินทรีย์ในเซลล์ยีสต์หรือน้ำหมัก ดังนั้นความสามารถในการต้านทานจุลินทรีย์จึงไม่น่าเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ยีสต์สามารถหมักได้โดยไม่ต้องแข่งขันกับจุลินทรีย์อื่น และที่น่าสนใจคือการเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ไม่เพียงแต่ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของสายพันธุ์ที่ทนต่อซัลเฟอร์ไดออกไซด์ แต่ยังช่วยคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่สามารถผลิตซัลเฟอร์ไดออกไซด์ได้ในปริมาณมากอีกด้วย

**2.3.7 ออกซิเจนและการเติมอากาศ**

กระบวนการหมักเป็นกระบวนการที่ไม่ต้องใช้ออกซิเจน แม้จะอยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจนก็ตามยีสต์ก็ยังคงเลือกที่จะใช้กระบวนการหมักแบบไม่มีออกซิเจน แต่อย่างไรก็ตามก็มีการใช้ออกซิเจนช่วยในการหมักโดยอ้อม คือการใช้ในการสังเคราะห์สารชีวโมเลกุล ได้แก่ สเตอรอลและกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว เพื่อการสร้างและทำงานอย่างเหมาะสมของเยื่อหุ้มเซลล์ยีสต์จำเป็นต้องใช้สเตอรอล (ส่วนมากใช้เออร์โกสเตอรอล) และกรดไขมัน C16 กับ C18 โดยสารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์สารเหล่านี้มาจากน้ำองุ่นและสารประกอบต่างๆ ที่สกัดได้จากกากองุ่นระหว่างกระบวนการแช่หมัก นอกจากนี้โมเลกุลออกซิเจนยังจำเป็นในการสังเคราะห์วิตามินและกรดนิโคตินิกอีกด้วยเช่นกัน ทั้งนี้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนยังเอื้อต่อการสะสมของกรดไขมันคาร์บอกซิลิกที่มีความเป็นพิษ (C8 และ C10) อีกด้วย สารพิษนี้ถูกเก็บไว้เพราะไม่สามารถนำไปอะซิเลตได้ในกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันจำเป็นสายยาว

**2.3.8 คาร์บอนไดออกไซด์และความดัน**

ในระหว่างการหมักจะมีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาในปริมาณมากประมาณ 260 มล./กรัมกลูโคส ซึ่งมากกว่าปริมาณน้ำหมักถึง 50 เท่า ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะมีการระเหยออกไปประมาณ 20% เนื่องจากความร้อนจากกระบวนการหมักและความร้อนบางส่วนอาจระเหยน้ำออกไปด้วยเช่นกัน

ในถังหมักส่วนใหญ่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะระเหยขึ้นไปรวมกับอากาศภายในถัง ทำให้ความดันภายในถังนั้นเพิ่มสูงขึ้น ที่ความดันมากกว่า 700 kPa (ประมาณ 7 atm) การเจริญเติบโตของยีสต์จะหยุดลง แต่ก็เคยมีรายงานว่าความดันเริ่มมีผลต่อการหมักตั้งแต่ความดันต่ำประมาณ 30 kPa ในสภาวะที่มี pH ต่ำและมีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์สูงจะทำให้ยีสต์มีความไวต่อความดันของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มากขึ้น นี้เป็นปัจจัยสำคัญที่ในกระบวนการผลิตสปาร์คกลิ้งไวน์ ในไวน์คูเว่ซึ่งสามารถเกิดความดัน 20 kPa ได้เป็นปกติก็มีผลกระทบเล็กน้อยต่อการหมักและการแบ่งตัวของยีสต์เช่นกัน การเกิดความดันสูงถึง 600 kPa สามารถพบได้เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักขั้นทุติยภูมิ อย่างไรก็ตามกระบวนการหมักของยีสต์จะสิ้นสุดโดยสมบูรณ์เมื่อเกิดความดันสูงถึง 3,000 kPa นอกจากนี้การสะสมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ยังส่งผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมด้วยเช่นกัน โดยจะส่งผลกระทบต่อความสมดุลระหว่างปฏิกิริยาคาร์บอกซิเลชั่นและปฏิกิริยาดีคาร์บอกิเลชั่น ส่วนผลกระทบของความดันต่อการสังเคราะห์สารประกอบอโรมาติกระหว่างกระบวนการผลิตไวน์นั้นยังไม่มีการศึกษาในปัจจุบัน

**2.3.9 ความเป็นกรด-ด่าง(pH)**

ช่วง pH ที่พบได้ตามปกติในน้ำองุ่นหรือในน้ำหมักมีผลกระทบเพียงเล็กน้อยต่ออัตราเร็วในการหมักหรือการสังเคราะห์และปลดปล่อยสารประกอบอะโรมาติก แต่ในสภาวะที่ pH ต่ำผิดปกติ (pH น้อยกว่า 3.0) จะขัดขวางการหมัก แต่อย่างไรก็ตามที่ pH ต่ำจะช่วยในการดูดซึมกรดอะมิโนบางชนิด โดยการช่วยเพิ่มจำนวนโปรตอนในการขนส่งสารผ่านเยื่อหุ้มเซลล์

**2.3.10 วิตามิน**

วิตามินมีบทบาทสำคัญในการควบคุมกระบวนการเมตาบอลิซึมของยีสต์ โดยทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์และสารตั้งต้นของเอนไซม์ แม้ว่าวิตามินจะไม่ได้ถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานแต่ปริมาณวิตามินวิตามินก็ลดลงอย่างเด่นชัดในระหว่างกระบวนการหมัก ยีสต์มักต้องการให้เกิดกระบวนการสังเคราะห์สารชีวภาพหรือกระบวนการดูดซึมในน้ำองุ่น ซึ่งกระบวนการเหล่านี้เป็นปัจจัยที่ทำให้วิตามินลดลง กรดไขมันที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักช่วยยับยั้งการดูดซึมไทแอมีนได้ ทำให้ช่วยลดการสูญเสียไทแอมีนจากการเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่มากเกินไป (การเก็บน้ำองุ่นไว้นานเกินไปก็ทำให้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์เพิ่มขึ้นได้เช่นกัน) และการเน่าเสียขององุ่น (โดยเฉพาะการเน่าเสียจากเชื้อรา Botrytis) หรือการปนเปื้อนของน้ำองุ่นที่เก็บไว้โดยเชื้อราหรือยีสต์สายพันธุ์อื่นสามารถลดปริมาณวิตามินลงได้ หากเกิดปนเปื้อนเหล่านี้ขึ้นการเติมวิตามินเพิ่มเข้าไปอาจเป็นสิ่งจำเป็นในการทำให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์

**2.3.11 สารประกอบอนินทรีย์**

สารประกอบอนินทรีย์มักเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ นอกจากนี้ยังมีบทบาทในการควบคุมกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์และควบคุม pH ของไซโตพลาสซึมและสมดุลของไอออน ยกตัวอย่างเช่น แมกนีเซียมมีส่วนช่วยในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไกลโคไลติกต่างๆและทำหน้าที่รักษาสมดุลของผนังเซลล์ เช่น ช่วยให้ยีสต์สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้รวดเร็วขึ้นและช่วยจำกัดความเสียหายของเซลล์ แต่เนื่องจากแคลเซียมทีแนวโน้มที่ขัดขวางการดูดซึมแมกนีเซียม จึงต้องระวังไม่ให้เติมแคลเซียมมากเกินไป เช่น ในกรณีเติมแคลเซียมคาร์บอเนตเพื่อลดความเป็นกรดที่มากเกินไป

**2.3.12 อุณหภูมิ**

อุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการหมักมากที่สุด ไม่เพียงแต่จะส่งผลในทางตรงและทางอ้อมต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของยีสต์เท่านั้น แต่ยังเป็นหนึ่งในสิ่งที่ผู้ผลิตไวน์สามารถที่จะควบคุมได้

**2.3.13 สารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้าง**

โดยปกติจะไม่พบร่องรอยของสารกำจัดศัตรูพืชในน้ำองุ่นหรือน้ำหมัก อาจพบในปริมาณที่น้อยมากหรือไม่พบเลยก็ได้เช่นกัน จึงไม่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการหมักไวน์ คุณภาพไวน์ หรือเป็นอันตรายต่อมนุษย์ การใช้สารกำจัดศัตรูพืชอย่างเหมาะสมจะช่วยใช้ผลองุ่นเจริญเติบโตได้อย่างสมบูรณ์ ได้คุณภาพสูง และลดโอกาสการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา หากใช้มากเกินไปหรือใช้ก่อนการเก็บเกี่ยวผลผลิตอาจส่งผลเสียต่อการผลิตไวน์และมีความเสี่ยงต่อสุขภาพได้ด้วยเช่นกัน

**2.3.14 การติดขัดของการหมัก**

การติดขัดในการหมัก คือ การยุติการหมักก่อนเวลาที่เหมาะสม ปัญหานี้เป็นปัญหาที่มีมาอย่างยาวนาน ในอดีตปัญหาการหมักติดขัดเกิดจากการเกิดความร้อนที่สูงเกินไปในระหว่างการหมัก ในกรณีที่ไม่มีการระบายความร้อนที่เหมาะสมผลไมที่เก็บเกี่ยวและหมักในสภาวะที่ร้อนสามารถทำให้เกิดการสะสมความร้อนและทำให้การหมักติดขัดได้ ผลลัพธ์ที่ได้คือไวน์จะเหลือน้ำตาลตกค้างอยู่มากและมีปริมาณแอลกอฮอล์ที่น้อยไม่เป็นที่ยอมรับในการผลิตไวน์ ทั้งนี้อาจเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียอีกด้วย และโอกาสการปนเปื้อนจะเพิ่มขึ้นหากองุ่นมีความเป็นกรดต่ำหรือ pH สูงเกินไป (Ronald, 2014)

**2.4 มะม่วง**

มะม่วงจัดอยู่ในแฟมิลี่ Anacardiaceae สามารถแบ่งย่อยได้ 79 จีนัส และ 601 สปีชีส์ มีสายพันธุ์ที่สำคัญๆ ได้แก่ ต้นมะม่วงหิมพานต์ (*Anacardium occidentale* L.), ต้นมะกอก (*Spondias lutea* Linn.), ต้น umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.), ต้นพลัม (*Spondias purpurea* Linn.), ต้นมะกอกฝรั่ง (*Spondias*

*cytherea* Sonn.) และ ต้นมะม่วง (*Mangifera indica* L.) ในกลุ่มที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ มะม่วงจัดเป็นสายพันธุ์ที่สำคัญที่สุด เนื่องจากเป็นผลไม้ที่มีคุณภาพ มีการเพาะปลูกเป็นจำนวนมากในหลายประเทศ และมีคุณค่าทางเศรษฐกิจสูงทั้งทางการค้าในประเทศและการค้าระหว่างประเทศ

มะม่วงจัดเป็นไม้ยืนต้น รากของต้นมะม่วงสามารถมียาวได้ตั้งแต่ 11-30 เมตร ขึ้นอยู่กับแหล่งกำเนิด, สายพันธุ์ของมะม่วง, สภาพอากาศ และดินที่ปลูก ลำต้นมีขนาดใหญ่ หนาและแข็งแรง ใบมีขนาดใหญ่ และออกดอกสีชมพูขนาดเล็ก ภายในดอกอาจมีทั้งเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย หรืออาจมีแค่เกสรตัวเมียเพียงอย่างเดียว

ผลมะม่วงเป็นผลเดี่ยว มีความหลากหลายสูง ทั้ง ขนาด, รูปร่าง, สี, ปริมาณไฟเบอร์, อโรม่า, กลิ่นและรส ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของมะม่วง ผิวของมะม่วงอาจมีทั้งสีเขียว, สีเหลือง หรือสีแดง และอาจมีจุดสีเหลืองอยู่รอบผล เนื้อด้านในมีสีเหลือง เมื่อสุกแล้วจะมีรสหวาน ผลมะม่วงอาจมีน้ำหนักได้ตั้งแต่น้อยกว่า 50 กรัม จนถึง มากกว่า 2 กิโลกรัม ลักษณะของผลมีความหลายหลาก โดยอาจมีลักษณะเป็นทรงกลม ทรงรี หรืออาจมีลักษณะคล้ายรูปไข่ แต่โดยทั่วไปลักษณะที่พบได้บ่อยได้แก่ ทรงกลม, ทรงรูปหัวใจ, ทรงไข่ เป็นต้น

ผลของมะม่วงสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนผิว (exocarp) ที่ใช้ในการปกป้องตัวผล, ชั้นของเนื้อผล (mesocarp) ที่มีสีเหลืองหรืออาจมีสีแดงขึ้นกับปริมาณแคโรทีนอยด์ และชั้นของเมล็ด (endocarp) ที่มีลักษณะแข็ง

มะม่วงเป็นผลไม้ที่มีปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สูง เป็นที่ทราบกันดีว่าแคโรทีนอยด์เป็นโปรวิตามินเอ นอกจากนี้ยังยังมีงานวิจัยว่าแคโรทีนอยด์ยังมีประโยชน์ในด้านอื่นๆ ได้แก่ เป็นสารยับยั้งการเกิดมะเร็ง, ช่วยเสริมภูมิต้านทานร่างกาย และป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจตีบตัน โดยเบต้าแคโรทีนเป็นสารสีหลักและเป็นพรีเคอเซอร์วิตามินเอในมะม่วง (Young, 2016)

### 2.4.1 มะม่วงน้ำดอกไม้

ชื่อวิทยาศาสตร์ : Mangifera indica Linn. อยู่ในวงศ์ : Anacardiaceae

มะม่วงน้ำดอกไม้ (Barracuda Mango) เป็นผลไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ เป็นทรงพุ่มทึบ ใบใหญ่ยาวรี ดอกเป็นช่อมีสีขาวนวล มีกลิ่นหอม ผลมีลักษณะรูปทรงรี ผิวเปลือกบาง ผลอ่อนมีสีเขียว มีรสชาติเปรี้ยวมาก มียางสีขาว ผลสุกมีสีเหลือง เนื้อสุกมีสีเหลือง มีเนื้อแน่นนุ่มฉ่ำน้ำ มีเนื้อมาก มีรสชาติหวานฉ่ำ มีกลิ่นหอม จะมีเมล็ดแข็งแบนบางรี สีขาวนวล อยู่ข้างในเนื้อ มะม่วงน้ำดอกไม้ปลูกกันมาก มีหลายสายพันธุ์ ได้แก่ มะม่วงน้ำดอกไม้เบอร์ 4 มะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง มะม่วงน้ำดอกไม้สีม่วง มะม่วงน้ำดอกไม้มัน เป็นต้น

รูปที่ 2.2 มะม่วงน้ำดอกไม้

ลำต้น เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ เป็นทรงพุ่มทึบ มีกิ่งก้านขยายกว้าง ลำต้นมีลักษณะกลมๆ เป็นไม้เนื้อแข็ง มีเปลือกแข็ง มียางสีขาวทั่วลำต้น เปลือกต้นมีสีน้ำตาล

ราก เป็นระบบแก้ว มีลักษณะกลม แทงลึกลงในดิน มีรากแขนงและรากฝอยขนาดเล็กๆ แทงกระจายบริเวณรอบๆลำต้น มีสีน้ำตาล

ใบ จะออกเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงตรงข้ามกัน ใบมีลักษณะทรงรี ใบใหญ่ยาวรีแหลม ผิวใบเรียบเป็นมัน ใบสีเขียวเข้ม

ดอก จะออกดอกเป็นช่อ ดอกมีสีขาวนวล มีขนาดเล็ก มีกลิ่นหอม มีก้านดอกยาว ดอกจะออกตามปลายกิ่ง

ผล มีลักษณะรูปทรงรี โคนมนปลายรี ผิวเปลือกบาง ผลอ่อนมีสีเขียว มียางสีขาว มีรสชาติเปรี้ยวมาก ผลสุกมีสีเหลือง เนื้อสุกมีสีเหลือง มีเนื้อแน่นนุ่มฉ่ำน้ำ มีเนื้อมาก มีรสชาติหวานฉ่ำ มีกลิ่นหอม มีเมล็ดแข็งแบนบางรี สีขาวนวล อยู่ข้างในเนื้อ

เมล็ด มีลักษณะแบนบางรี จะอยู่ข้างในเนื้อ มีสีขาวนวล ผิวเปลือกหุ้มเมล็ดแข็งขรุขระ (ม.ป.ช., 2561)

**2.5 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ**

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ( Bioactive compounds) เป็นสารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคน สัตว์ และพืช สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่ดีต้องเป็นสารที่มีผลจำเพาะเจาะจง (Pihlanto and Korhonen., 2015)

### 2.5.1 แคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์จัดเป็นสารสีจากธรรมชาติที่ได้รับการศึกษามากที่สุด สามารถละลายได้ดีในสารไม่มีขั้ว แคโรทีนอยด์จะมีสีออกโทนสีเหลือง, สีส้ม และสีแดงในต้นพืช (เช่น ข้าวโพด, แครอท, มะละกอ มะเขือเทศ, แตงโม) และอาจอยู่ในตัวปลาบางชนิด (เช่น แซลมอน) และในสัตว์เปลือกแข็ง (เช่น ลอบสเตอร์, ปู และกุ้ง)

ในทางด้านร่างกายของมนุษย์ แคโรทีนอยด์เป็นโปรวิตามินเอ ในช่วงเวลามี่ปีมานี้ได้มีการเร่งศึกษาเกี่ยวกับผลของแคโรทีนอยด์ในการลดความเสี่ยงในการเกิดโรคความเสื่อมเรื้อรัง, มะเร็ง, โรคหลอดเลือดหัวใจ, ต้อกระจก และโรคจุดภาพชัดที่จอตาเสื่อม นอกจากนี้แคโรทีนอยด์ยังมีผลของต่อร่างกายในด้านอื่นๆ ได้แก่ ช่วยในเรื่องกระบวนการคิด, ปกป้องผิวหนังจากแสงอาทิตย์, ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์, ลดการเกิดภาวะซึมเศร้า และรักษาปริมาณความเข้มข้นของแร่ธาตุในร่างกายของผู้สูงอายุ (Delia B.Rodriguez-Amaya., 2018)

แคโรทีนอยด์เป็นสารที่มีผลต่อโรค โดยจัดเป็นสารแอนตี้ออกซิแดนท์ จากการศึกษาพบว่าอาหารที่มีแคโรทีนอยด์สามารถช่วยลดดัชนีชี้วัดของภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชันได้ (สุริยา ทุดปอ และจิตรา สิงห์ ทอง, 2560)

## 2.6 การตรวจสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

การตรวจสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มของสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน(anti-oxidation) สามารถวิเคราะห์ค่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้หลากหลายวิธีขึ้นอยู่กับหลักการที่ใช้ เช่น วิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) และ Total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP) วิเคราะห์จากการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน (hydrogen atom transfer, HAT) ส่วนวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) และ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) วิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (electron transfer, ET หรือ SET) และวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสำคัญที่พบในแก้วมังกรแดง ได้แก่ สารเบตาเลน(betalain)หรือเบตาไซยานิน(betacyanin) สารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซี (ยอดหทัย เทพธรานนท์, 2543)

## 2.7 เครื่องปรุงรสจากการหมัก

เครื่องปรุงรสจากการหมักคือการนำวัตถุดิบมาผ่านกระบวนการหมักโดยใช้ วัตถุดิบ เชื้อในการหมัก เวลาในการหมัก อุณหภูมิ ปริมาณแก๊สออกซิเจน ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลในสารตั้งต้นและอื่นๆที่ใช้ในการหมักที่แตกต่างกันทำให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย (Gibbs, Zougman, Masse and Mulligan., 2004)

ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการหมักจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีที่อยู่ในวัตถุตั้งต้นทำให้มีกลิ่น สี เนื้อสัมผัส รสชาติและคุณค่าทางโภชนาการ ที่หลากหลายทำให้นิยมนำมาเป็นเครื่องปรุงรสชาติของอาหารให้มีความหลากหลาย อาทิเช่น น้ำส้มสายชู(Vinegar), มิริน(Mirin) และอื่นๆ

**2.7.1 น้ำส้มสายชู(Vinegar)**

น้ำส้มสายชู(Vinegar) เป็นของเหลวที่ประกอบด้วยกรดอะซิติก($CH_3COOH$) 5 – 20 %, น้ำ($H_2O$) และสารเคมีอื่นๆเพื่อรสชาติที่ต้องการ กรดอะซิติกเกิดจากการหมักแอลกอฮอล์โดยอะซิติกแบคทีเรีย(acetic acid bacteria) ปัจจุบันน้ำส้มสายชูถูกนำมาปรุงรสชาติของอาหารและการหมักดองต่างๆ

น้ำส้มสายชูแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด คือ 1.น้ำส้มสายชูหมัก 2.น้ำส้มสายชูกลั่น 3.น้ำส้มสายชูเทียม

น้ำส้มสายชูหมัก คือน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมัก เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าว ข้าวโพด หรือ ผลไม้ เช่น สับปะรด แอปเปิ้ล หรือ น้ำตาล กากน้ำตาล วัตถุดิบที่มีน้ำตาล เช่นผลไม้ต่างๆเป็นอาหารของยีสต์ได้โดยตรง ส่วนวัตถุดิบที่มีสตาร์ช(starch) เช่น ข้าว จะต้องเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลก่อนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก เป็นการหมัก 2 ขั้นตอน คือการหมักน้ำตาลให้เกิดแอลกอฮอล์(alcoholic fermentation) โดยใช้ยีสต์ ตามด้วยการหมักแอลกอฮอลีให้เกิดกรดอะซิติก(acetic fermentation) ด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม Acetobacter และ Gluconobacter ในภาวะที่มีออกซิเจน น้ำส้มสายชูหมักจะใส ไม่มีตะกอน ยกเว้นตะกอนที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ มีกลิ่นหอมตามกลิ่นของวัตถุดิบ มีรสชาติดี มีความหวานของน้ำตาลที่ตกค้าง กลิ่นของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักเข้มข้นขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณน้ำตาลของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก และมีปริมาณกรดอะซิติกไม่น้อยกว่า 4 %

น้ำส้มสายชูกลั่น คือผลิตภัณฑ์ที่ได้จาการนำเอทธิลแอกอฮอล์กลั่นเจือจาง(Dilute Distilled Alcohol) มาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชู หรือเมื่อหมักแล้วนำไปกลั่น(distillation) หรือได้จากการนำน้ำส้มสายชูหมักมากลั่น น้ำส้มสายชูกลั่นจะต้องมีลักษณะใส ไม่มีตะกอนและมีปริมาณกรดอะซิติกไม่น้อยกว่า 4%

น้ำส้มสายชูเทียม คือผลิตที่ได้จากการนำเอากรดอะซิติกซึ่งสังเคราะห์ขึ้นทางเคมี เป็นกรดอินทรย์มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนมีความเข้มข้นประมาณ 95 % มาเจือจางจนได้ปริมาณกรด 4 – 7% ลักษณะใส ไม่มีสี กรดอะซิติกที่นำมาเจือจางจะต้องมีความบริสุทธิ์สูงเหมาะที่จะนำมาเป็นอาหารได้และน้ำที่ใช้เจือจางต้องเหมาะสมจะใช้ดื่มได้ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2561)

**2.7.2 เครื่องปรุงรสจากการหมักแอลกอฮอล์ (cooking wine)**

เครื่องปรุงรสจากการหมักแอลกอฮอล์เป็นเครื่องปรุงรสที่ผลิตจากผัก หรือผลไม้ หรือสมุนไพร หรือธัญพืชต่างๆมาทำการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์และกลิ่นรสเฉพาะตัว นิยมนำไปปรุงอาหารและเครื่องดื่มให้มีรสชาติที่ดีขึ้น ได้แก่ มิริน คาลัว เหล้าจีน

2.7.2.1 มิริน(Mirin)

มิริน(Mirin) คือ เครื่องปรุงรสที่สำคัญของชาวญี่ปุ่น มิรินเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ประเภทเดียวกับไวน์ข้าว เช่น สาเก(sake) แต่มีปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำกว่า และมีความหวานที่สูงกว่า ความหวานที่เพิ่มขึ้นมาจากการเกิดคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนในระหว่างการหมักโดยที่ไม่ทำให้ระดับน้ำตาลเพิ่มขึ้น แอลกอฮอล์ในมิรินจะลดลงเมื่อโดนความร้อนในกระบวนการปรุงอาหาร มิรินแบ่งออกเป็น 3 ประเภทคือ 1.ฮอนมิริน(hon mirin) 2.ชิโอมิริน (shio mirin) 3.ชินมิริน(shin mirin)

ฮอนมิริน(hon mirin) คือ มิรินที่ใช้เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มีปริมาณแอลกอฮอล์ประมาณ 14 % โดยการใช้วิธี mashing (saccharification process) 40-60 วัน

ชิโอมิริน(shio mirin) คือ มิรินที่มีปริมาณแอลกอฮอล์น้อยกว่า 1.5 % เพื่อหลีกเลี่ยงภาษีแอลกอฮอล์

ชินมิริน(shin mirin) คือ มิรินแบบใหม่(new mirin) หรือ mirin-fu chomiryo มีปริมาณแอลกอฮอล์น้อยกว่า 1 % แต่ให้รสชาติเหมือนเดิม (Katsumi Hashizume, Toshihiko Ito, Takahiro Ishizuka, and Naoki Takeda., 2013)

2.7.2.2 คาห์ลัว

คาห์ลัวเป็นเหล้ารสกาแฟ ผลิตในประเทศเม็กซิโก มีส่วนประกอบสำคัญคือเหล้ารัม น้ำตาล วานิลลาและกาแฟอาราบิก้า มีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 20 และมีปริมาณคาเฟอีน 10 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร มักนิยมนำมาผสมปรุงรสเป็นเครื่องดื่มค็อกเทล เช่น Espresso Martini, White Russian, Black Russian, Mind Eraser, B-52, Baby Guinness, Brave Bull, Colorado Bulldog, Dirty Mother, Kahlua Sour, Moose Milk, Mudslide และ Spanish coffee (Kahlua, 1936)

2.5.2.3 เหล้าจีน(Chinese Cooking Wine)

เหล้าจีนหรือเฉาชิง(Shaosing Wine) เหล้าจีนเป็นเครื่องปรุงรสจากการหมักข้าว มีปริมาณน้ำตาลต่ำและมีรสชาติเค็ม นิยมใส่ในอาหารจีนเพื่อเพิ่มรสชาติและกลิ่นของอาหารให้ชัดเจนขึ้น เหมาะสำหรับการนำไปปรุงอาหารคาวมากกว่าอาหารหวาน เหล้าจีนมักนำมาหมักเนื้อ และใส่ในอาหารทะเลเพื่อดับกลิ่นคาว อีกทั้งยังใช้ปรุงอาหารหลายชนิด เช่น หมูสามชั้นน้ำแดง หมักไส้เกี๊ยว ทำไก่แช่เหล้า เป็นต้น (Andrea Nguyen, 2010)

เหล้าจีนเกิดจากการนำข้าวสาลีและข้าวฟ่างมาหมักกับดอกไม้ที่มีกลิ่นหอมหรือโสมจีนหมักด้วยยีสต์ มีแอลกอฮอล์ 15-20% (Haiyan Yu, Tong Xie, Jingru Xie, Lianzhong Ai, Huaixiang Tian) ในการปรุงรสชาติอาหารจะใส่ในปริมาณน้อยเพื่อไม่ให้เกิดรสขมและกลิ่นฉุนของแอลกอฮอล์ และเมื่อให้ความร้อนในการปรุงอาหารแอลกอฮอล์ส่วนหนึ่งก็จะระเหยออกไปจึงทำให้อาหารมีแอลกอฮอล์ไม่มากเกินไปจนทำให้มึนเมาได้ (Nagi, 2018)

## 2.8 เม็ดบีดส์

เม็ดบีดส์ คือเม็ดที่ได้จากการห่อหุ้มสารไว้ภายในโดยสารห่อหุ้มมีองค์ประกอบหลักคือ ไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloid) มีการนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มรูปแบบใหม่เพื่อกักเก็บรักษาคุณค่าทางอาหารไว้ภายใน และช่วยรักษากลิ่นรสในอาหาร กระบวนการผลิตเม็ดบีดส์ทำได้ 3 วิธีหลัก วิธีแรกเป็นการใช้ extrusion ในการห่อหุ้มสารที่เป็นของเหลวภายใน โดยผสมกับโซเดียมแอลจิเนตแล้วหยดลงในสารละลายสารละลายแคลเซียมคลอไรด์(CaCl2) วิธีที่ 2 เรียกว่า spherification เป็นการทำเม็ดบีดส์แอลจิเนต อาศัยความแตกต่างระหว่างประจุของพอลิเมอร์ในการเคลือบสาร โดยหยดโซเดียมแอลจิเนตลงในสารละลายที่มีประจุบวก และวิธีที่ 3 เรียกว่า reverse spherification โดยใช้แคลเซียมคลอไรด์ผสมกับสารที่ต้องการห่อหุ้ม หยดลงในสารละลายโซเดียมแอลจิเนต เพื่อให้เกิดการห่อหุ้มสารภายใน ซึ่งอาจมีการนำเม็ดบีดส์ที่ได้แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์อีกครั้ง เพื่อทำให้กระบวนการกักเก็บสารเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ (พัชรี คำประเวช และสุธีรา วัฒนกุล, 2561)

## 2.9 Reverse Spherification

วิธีรีเวิร์สสเฟียริฟิเคชัน (reverse spherification) วิธีการทำเม็ดบีดส์ เป็นการทำอาหารแบบ molecular gastronomy ที่จัดอยู่ในกลุ่มเทคโนโลยีอาหารสมัยใหม่ (modern cuisine technology) โดยใช้สารที่ก่อให้เกิดเจลเพื่อห่อหุ้มสารที่ต้องการทำเม็ดบีดส์ โดยมักนิยมใช้โซเดียมแอลจิเนตเป็นสารสร้างเจล

โซเดียมแอลจิเนตเป็นสารประกอบพอลิแซกคาไรด์ที่ได้จากธรรมชาติ สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล มีสมบัติเป็นประจุลบ ประกอบด้วย 1,4-linked-$\beta$-D-mannuronic (M) และ $\alpha$-L-guluronic acid (G) ที่ต่อกันแบบ homopolymeric blocks (Gหรือ M-blocks) และ heteropolymeric blocks (MG-blocks) โดยมีหมู่ G-blocks สามารถจับกับประจุบวกของสารชนิดอื่น โดยการแทนที่ไฮโดรเจนในหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group) แล้วเกิดเป็นโครงสร้างตาข่ายที่เรียกว่า egg box model ได้ เช่น $Ca^{2+}$, $Ba^{2+}$ และ $Al^{3+}$ แอลจิเนตมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีความปลอดภัยสูง ราคาไม่แพง สามารถเกิดเจลในสภาวะที่เหมาะสม และยังมีสมบัติเป็น bio-compatibility จึงไม่ส่งผลเสียต่อร่างกาย (พัชรี คำประเวช และสุธีรา วัฒนกุล, 2561)

# บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

## 3.1 ขั้นตอนคัดเกรดมะม่วง

การคัดเกรดมะม่วงอ้างอิงจากข้อกำหนดขั้นต่ำมาตรฐานสินค้าเกษตรของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ โดยดูจากสภาพผลดี แต่มีรอยช้ำหรือรอยขีดข่วนเกินข้อกำหนดขั้นต่ำ ตัวอย่างมะม่วงน้ำดอกไม้จากตลาดสะพานขาว แขวงสี่แยกมหานาค เขตดุสิต กรุงเทพมหานคร

## 3.2 อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี

การเตรียมอุปกรณ์ในการเตรียมน้ำมะม่วง หมักน้ำมะม่วง และติดตามผลทางเคมี กายภาพ ชีวภาพของการหมักน้ำมะม่วง ต้องใช้อุปกรณ์ดังนี้

### 3.2.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.2.1.1 มีดปอกผลไม้

3.2.1.2 เขียงพลาสติก

3.2.1.3 เครื่องปั่นอเนกประสงค์ (SHARP, ไทย)

3.2.1.4 ขวดหมัก (laboratory bottle) ขนาด 5 ลิตร (Duran, เยอรมัน)

3.2.1.5 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (Toledo, ไทย)

3.2.1.6 เครื่องวัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Refractometer) (Hunna, สหรัฐอเมริกา)

3.2.1.7 เครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์ (vinometer) (Alla, ฝรั่งเศส)

3.2.1.8 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) (Tomy, ญี่ปุ่น)

3.2.1.9 ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Heamacytometer) (American Optical, สหรัฐอเมริกา)

3.2.1.10 จานเพาะเชื้อพลาสติก (plastic plate) (Hycon, ไทย)

### 3.2.2 สารเคมี

3.2.2.1 โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, NaCl) (Carlo Erba, ฝรั่งเศส)

3.2.2.2 โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ (Sodium metabisulfite, KMS) (Ajax Finechem, นิวซีแลนด์)

3.2.2.3 น้ำกลั่น (Distilled water)

3.2.2.4 น้ำตาลซูโครส (Sucrose, $C_6H_{12}O_6$) (มิตรผล, ไทย)

3.2.2.5 YM agar (Himedia, อินเดีย)

3.2.2.6 เปปโตน (Peptone) (Himedia, อินเดีย)

3.2.2.7 กรดซิตริก (Citric acid, $C_6H_8O_7$) (Ajax Finechem, นิวซีแลนด์)

3.2.2.8 ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต(diammonium hydrogen phosphate, $(NH_4)_2HPO_4$) (Ajax Finechem, นิวซีแลนด์)

3.2.2.9 กลูโคสไซรัป (glucose syrup) 85°Brix ค่าDE 37-40 (ช้างห้าดาว, ไทย)

3.2.2.10 ฟรุคโตสไซรัป (fructose syrup) 78°Brix (C บนใบไม้, ไทย)

3.2.2.11 น้ำตาลมะพร้าว (palm sugar) 85°Brix (ผู้ประกอบการท้องถิ่น, ไทย)

## 3.3 วิธีการทดลอง

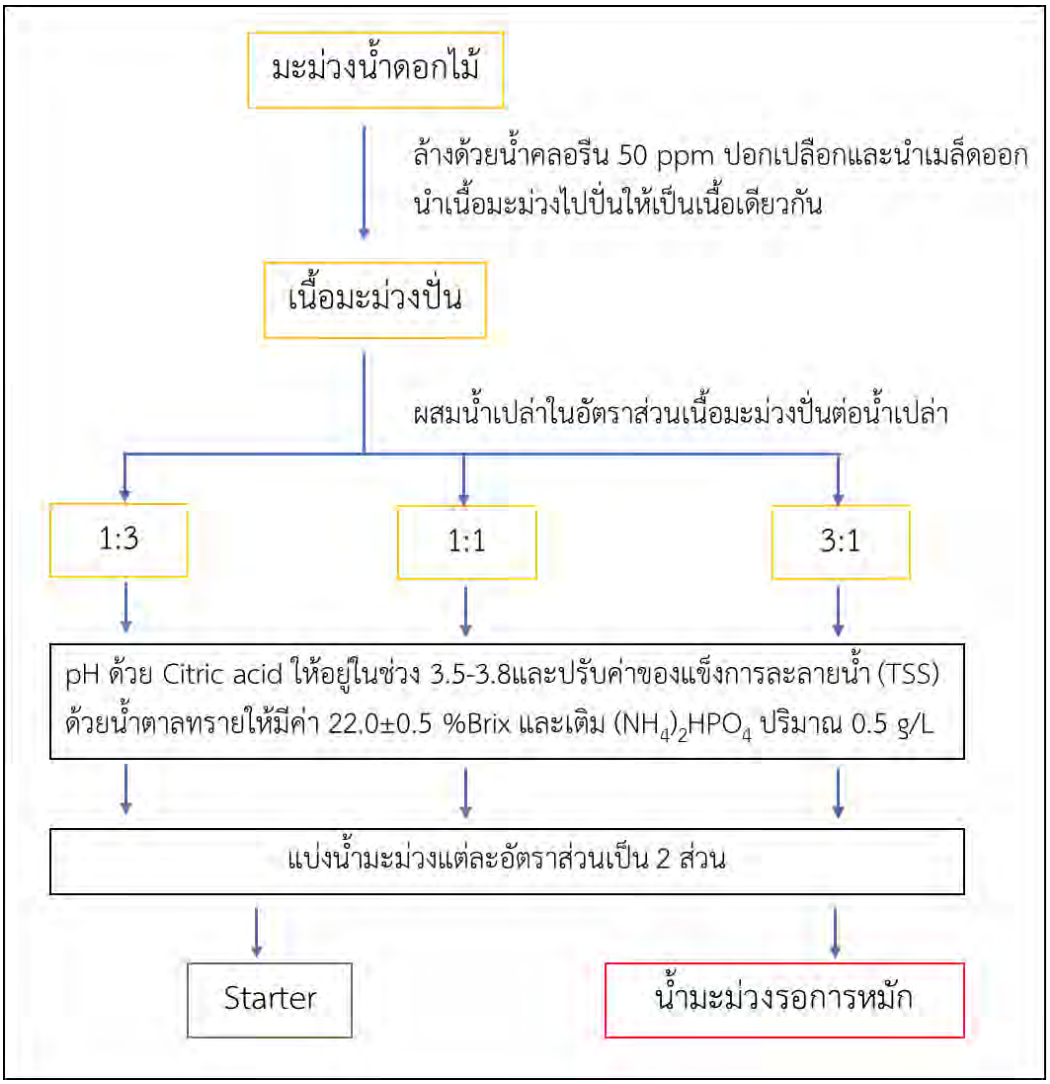
### 3.3.1 ประเมินสภาวะการหมักมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยยีสต์

3.3.1.1 ยีสต์

การทดลองนี้เป็นการหมักโดยโดยแปรสัดส่วนความเข้มข้นระหว่างเนื้อมะม่วงปั่นและน้ำ ร่วมกับการแปรสายพันธุ์ชนิดทางการค้าทั้งหมด 5 สายพันธุ์ ได้แก่ 1. *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ Lalvin K1V-1116 2. *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ Lalvin EC-1118 3. *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ Lalvin 71B 4. *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ Lalvin QA23 และ5. *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ Lalvin ICV-D47

3.3.1.2 การเตรียมน้ำมะม่วงในการทดลอง

ทำความสะอาดผิวมะม่วงด้วยน้ำคลอรีน 50 ppm กำจัดเปลือกและเมล็ดออก นำเนื้อมะม่วงไปปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นผสมเนื้อมะม่วงที่ได้กับน้ำสะอาดในอัตราส่วนระหว่างเนื้อมะม่วงปั่นและน้ำ ดังนี้ 1:1 1:3 และ 3:1 (v/v) ปรับค่า pH ด้วย Citric acid ให้อยู่ในช่วง 3.5-3.8 กรณีที่ pH ต่ำเกินไปให้ปรับด้วย 1 N NaOH ปรับค่าของแข็งการละลายน้ำ (TSS) ด้วยน้ำตาลทรายให้มีค่า 22.0±0.5 %Brix และเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ปริมาณ 0.5 g/L จากนั้นแบ่งน้ำมะม่วงออกเป็น 2 ส่วน สำหรับเตรียมกล้าเชื้อเข้มข้น (starter) และน้ำมะม่วงพร้อมหมักดังแสดงตามรูปที่ 3.1




รูปที่ 3.1 การเตรียมน้ำมะม่วง

3.3.1.3 การเตรียมน้ำมะม่วงพร้อมหมัก

นำน้ำมะม่วงส่วนที่ 1 ปริมาตร 250 ml ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติม KMS ปริมาณ 0.2 g/l ปิดฝาและตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ดังแสดงตามรูปที่ 3.2

รูปที่ 3.2 การเตรียมน้ำมะม่วงพร้อมหมัก

3.3.1.4 การเตรียม starter

นำน้ำมะม่วงส่วนที่ 2 ปริมาตร 50 ml ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติมยีสต์ผง *Saccharomyces cerevisiae* ปริมาณ 0.5 g ผสมให้เข้ากัน และนำไปเขย่าด้วยเครื่อง rotary shaker ที่ 150 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือเชื้อเจริญถึงประมาณ $10^8$ CFU/ml ดังแสดงตามรูปที่ 3.3

รูปที่ 3.3 การเตรียม Starter

3.3.1.5 การหมัก**น้ำมะม่วง**

นำ starter เทลงในน้ำหมักที่เตรียมไว้ แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 11 วัน (Joshi, Panesar, Rana and Kaur., 2017) โดยประเมินคุณภาพการหมักโดยการตรวจวัด %Alcohol และค่าของแข็งการละลายน้ำ (TSS) และยุติการหมักโดยการเติม KMS เข้มข้น 200 ppm หลังจากนั้นนำน้ำมะม่วงไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no.4 เพื่อแยกกากมะม่วงและตะกอนยีสต์ออก ดังแสดงตามรูปที่ 3.4

รูปที่ 3.4 การหมักน้ำมะม่วง

**3.3.2 ศึกษารูปแบบการหมักเพื่อผลิตน้ำหมักสำหรับทำเครื่องปรุงรส**

เตรียมน้ำมะม่วงและ starter ตามสภาวะที่เลือกจากข้อ 3.2.1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร หมักที่อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน โดยประเมินคุณภาพการหมักโดยการตรวจวัด %Alcohol ค่าของแข็งการละลายน้ำ (TSS) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และการเจริญเติบโตของยีสต์ด้วยวิธี Plate count YM agar และยุติการหมักโดยการเติม KMS ปริมาณ 200 ppm หลังจากนั้นนำน้ำหมักมะม่วงไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no.4 และวิเคราะห์คุณสมบัติผลิตภัณฑ์น้ำหมักมะม่วงหมักโดยการตรวจปริมาณกรดอินทรีย์และน้ำตาล ด้วยวิธีดังต่อไปนี้

- pH โดยใช้ pH meter
- Total soluble solid (TSS) โดยใช้ Refractometer
- %Alcohol โดยใช้ vinometer
- การเปลี่ยนแปลงประชากรเซลล์ยีสต์ ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้น YM (วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.)
- ปริมาณกรดอินทรีย์และน้ำตาล ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ข.)

**3.3.3 พัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงรส**

3.3.3.1 การเพิ่มค่า TSS และลดปริมาณแอลกอฮอล์

ปรับค่าของแข็งการละลายน้ำ (TSS) ของกลูโคสไซรัป ฟรุคโตสไซรัป และน้ำตาลมะพร้าวให้มีค่าเท่ากับ 60 %Brix จากนั้นนำน้ำหมักที่ได้จากข้อ 3.2.2 ผสมกับน้ำตาลแต่ละชนิดให้เป็นเครื่องปรุงรสเพื่อเพิ่มความหวานให้กับเครื่องปรุงรสมะม่วงโดยใช้วิธีการคำนวณเพียร์สัน สแควร์(วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก.) และลดปริมาณแอลกอฮอล์ โดยผสมให้มีค่า TSS เท่ากับ 40 %Brix และมีปริมาณแอลกอฮอล์ 6 % ดังแสดงตามรูปที่ 3.5

รูปที่ 3.5 การปรุงน้ำหมักมะม่วง

**3.3.4 แนวทางการใช้เครื่องปรุงรสมะม่วง**

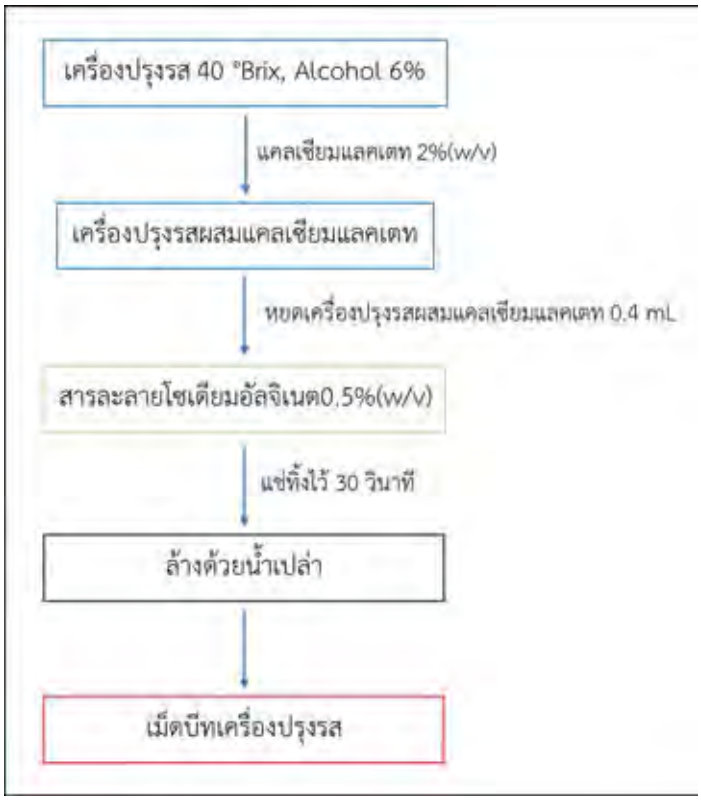
นำเครื่องปรุงรสมาปรุงเครื่องดื่มโดยนำเครื่องปรุงรสทำเป็นเม็ดบีดส์ด้วยวิธี reverse spherification (พัชรี คำประเวช และสุธีรา วัฒนกุล, 2561) โดยแบ่งเป็น 2 คือ ของเหลวภายใน (liquid-core) และส่วนห่อหุ้ม (gelling bath)

ของเหลวภายในคือส่วนที่จะให้รสชาติเมื่อเม็ดบีดส์แตกออก ในการทดลองนี้ของเหลวภายในคือเครื่องปรุงรสมะม่วง เตรียมโดยการการนำเครื่องปรุงรสมะม่วงเติมแคลเซียมแลคเตท 2%(w/v) คนผสมจนละลายเข้ากัน

ส่วนห่อหุ้มคือส่วนที่ทำให้เกิดเจลมาห่อหุ้มของเหลวภายในไว้ ในการทดลองนี้ใช้สารโซเดียมแอลจิเนตเป็นสารที่ทำให้เกิดเจลห่อหุ้ม เตรียมโดยการละลายโซเดียมแอลจิเนตด้วยน้ำกลั่น เข้มข้น 0.5%(w/v)

3.3.4.1 การทำเม็ดบีดส์

การทำเม็ดบีดส์คือการหยดของเหลวภายใน(liquid-core)ลงในส่วนห่อหุ้ม (gelling bath) โซเดียมแอลจิเนตจะเกิดเจลแบบ ionic gelation ในการทดลองนี้จะหยดของเหลวภายในปริมาตร 0.4 ml ลงในส่วนห่อหุ้มและแช่ไว้ 30 วินาที จากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อกำจัดโซเดียมแอลจิเนตที่เกินมา ดังแสดงตามรูปที่ 3.6




รูปที่ 3.6 การทำเม็ดบีดส์เครื่องปรุงรสด้วยวิธี reverse spherification

3.3.4.2 ทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์โดยนำเม็ดบีทใส่ลงในเครื่องดื่มลิ้นจี่โซดา

ทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์โดยนำเม็ดบีทใส่ลงในเครื่องดื่มลิ้นจี่โซดา เป็นการทดสอบ preference test แบบ 7-hedonic test จำนวน 30 คน (แบบสอบถามดังแสดงในภาคผนวก ง.) คำนวณแบบ CRD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เป็นการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น รสชาติ รสสัมผัส และความชอบโดยรวม องค์ประกอบเครื่องดื่มแบ่งได้ 2 ส่วน คือ เม็ดบีดส์ และน้ำลิ้นจี่โซดา เม็ดบีดส์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 cm. ความเข้มข้น 40°Brix จำนวน 3 เม็ดต่อเสิร์ฟ ผสมน้ำลิ้นจี่เข้มข้น 1 ส่วน กับน้ำดื่ม 3 ส่วนและเติมโซดา 2 ส่วน ปริมาตร 10 mlต่อเสิร์ฟ เสิร์ฟที่อุณหภูมิ 8-10 องศาเซลเซียส

3.3.4.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์การทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์ใช้วิธีทดสอบ preference test แบบ 7-hedonic test ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน วิเคราะห์ด้วยวิธี CRD ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยคำนวณผ่านโปรแกรม SPSS เพื่อหาความแตกต่างของเครื่องปรุงรสมะม่วงโดยมีการแปรค่าของชนิดสารให้ความหวานที่นำมาผสมเป็นเครื่องปรุงรส

# บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

## 4.1 ประเมินสภาวะการหมักมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยยีสต์

จากการศึกษาสายพันธุ์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในการหมักไวน์พบว่ายีสต์ทางการค้ามีมากมายหลายสายพันธุ์ แต่ละสายพันธุ์จะให้ผลการหมักที่แตกต่างกันออกไป ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้มะม่วงเป็นผลไม้ในการหมักไวน์จึงคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ทางการค้าจากคุณสมบัติที่ผู้ผลิตได้กล่าวอ้างไว้ โดยคำนึงถึงคุณสมบัติดังนี้คือ เหมาะแก่การหมักผลไม้ ให้กลิ่นและรสที่ดี อุณหภูมิการเจริญอยู่ในช่วง 25±1องศาเซลเซียส และทดทานต่อแอลกอฮอล์สูงๆ จึงได้ยีสต์ทางการค้าที่มีคุณสมบัติตรงตามต้องการจำนวน 5 สายพันธุ์คือยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์. Lalvin 71B, Lalvin QA23, Lalvin ICV D47, Lalvin EC-1118 และ Lalvin K1V-1116

เมื่อได้สายพันธุ์ยีสต์ตามคุณสมบัติที่ต้องการ ทำการหมักไวน์มะม่วงเพื่อหาสายพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดในการหมักไวน์มะม่วงโดยวัดค่าทางประสาทสัมผัสในด้านกลิ่น สี และความชอบโดยรวมด้วยวิธี ranking testร่วมกับค่าอัตราการลดลงของค่า TSS จากการใช้น้ำตาลในการหมัก การหมักไวน์มีการควบคุมค่า pH เท่ากับ 3.5 ค่า TSS เท่ากับ 22 ºBrix จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเริ่มต้นประมาณ $10^9$ cfu/ml อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียสและแปรค่าความเข้มข้นของน้ำมะม่วงโดยมีอัตราส่วนเนื้อมะม่วงปั่นต่อน้ำ คือ 1:3 1:1 และ 3:1 ประเมินคุณภาพการหมักเบื้องต้นด้วยการติดตามค่า TSS ในวันที่ 0 3 5 7 9 11 ของการหมักและค่าปริมาณแอลกอฮอล์หลังจากยุติการหมัก

**ตารางที่ 4.1** การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักน้ำมะม่วงที่มีการปรับค่าความเข้มข้นของน้ำมะม่วงเริ่มต้น

| ตาราง %Brix | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ชนิดยีสต์ | วันที่ | 0 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 |
| | M : W | | | | | | |
| 71B | 3:1 | 22.6 | 6.5 | 8 | 7.9 | 7.6 | 7.7 |
| | 1:1 | 21.8 | 6.6 | 7.3 | 7.3 | 7.2 | 7.1 |
| | 1:3 | 22 | 13.2 | 7.4 | 7 | 6.9 | 7.1 |
| QA23 | 3:1 | 22.6 | 11.4 | 8.6 | 7.7 | 7.3 | 7.3 |
| | 1:1 | 21.8 | 11.5 | 9.2 | 7.7 | 7 | 7.1 |
| | 1:3 | 22 | 13.6 | 10.7 | 7.7 | 6.7 | 6.7 |

| ตาราง %Brix | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ชนิดยีสต์ | วันที่ | 0 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 |
| | M : W | | | | | | |
| EC-1118 | 3:1 | 22.6 | 14.8 | 9.2 | 8 | 7.4 | 7.1 |
| | 1:1 | 21.8 | 12.3 | 13.7 | 9.1 | 7.4 | 6.9 |
| | 1:3 | 22 | 15.9 | 13.5 | 9.9 | 7.5 | 7.1 |
| K1-V1116 | 3:1 | 22.6 | 6.6 | 7.9 | 7.8 | 7.4 | 7.1 |
| | 1:1 | 21.8 | 6.3 | 7.5 | 7.4 | 7.3 | 7.2 |
| | 1:3 | 22 | 5.4 | 6.9 | 6.6 | 6.8 | 6.8 |
| D47 | 3:1 | 22.6 | 6.7 | 8.3 | 7.9 | 7.7 | 7.6 |
| | 1:1 | 21.8 | 7.6 | 7.9 | 7.6 | 7.6 | 7.3 |
| | 1:3 | 22 | 7.8 | 7.3 | 7.1 | 7.3 | 7.2 |

* M:W คือ Mango:Water อัตราส่วนมะม่วงปั่นต่อน้ำ

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสทางประสาทสัมผัสในด้านกลิ่น สี และความชอบโดยรวมด้วยวิธี ranking test พบว่าอันดับที่ 1 คือ EC-1118(1:1) อันดับที่ 2 คือ QA23(1:1) และอันดับที่ 3 คือ D47(1:1) เมื่อพิจารณาผลการทดสอบาทงประสาทสัมผัสร่วมกับผลการติดตามค่าTSSและค่าปริมาณแอลกอฮอล์หลังจากยุติการหมัก จึงทำการเลือกยีสต์*Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ Lalvin EC-1118 เป็นยีสต์ในการหมักไวน์มะม่วง และเลือกความเข้มข้นของน้ำมะม่วงในอัตราส่วนเนื้อมะม่วงปั่นต่อน้ำ คือ 1:1 เพื่อศึกษาค่าต่างๆและนำไวน์ที่ได้จากการหมักไปพัฒนาเป็นเครื่องปรุงรสต่อไป

จากผลการทดลองดังตารางที่ 4.1 และ 4.2 พบว่ายีสต์แต่ละสายพันธุ์มีอัตราหมักที่แตกต่างกัน เนื่องจากยีสต์มีความสามารถในการหมักให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์ ความเร็วในการหมัก อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักและการให้กลิ่นจากการหมักที่แตกต่างกัน (Jay, 2011) จึงทำให้การใช้น้ำตาลและปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักโดยใช้ยีสต์แต่ละสายพันธุ์มีค่าแตกต่างกัน

**ตารางที่ 4.2** ปริมาณแอลกอฮอล์หลังยุติการหมักเมื่อหมักได้ 11 วัน

| ตาราง %Alcohol ของการหมักยีสต์แต่ละชนิด | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| ชนิดยีสต์ | ครั้งที่ | 1 | 2 | 3 | average |
| | M : W | | | | |
| 71B | 3:1 | 9 | 9 | 9 | 9.00±0.00 |
| | 1:1 | 9 | 9 | 8 | 8.67±0.58 |
| | 1:3 | 10 | 10 | 10 | 10.00±0.00 |
| QA23 | 3:1 | 9 | 9 | 9 | 9.00±0.00 |
| | 1:1 | 9 | 9 | 9 | 9.00±0.00 |
| | 1:3 | 7 | 10 | 10 | 9.00±1.73 |
| D47 | 3:1 | 9 | 9 | 8 | 8.67±0.58 |
| | 1:1 | 9 | 9 | 8 | 8.67±0.58 |

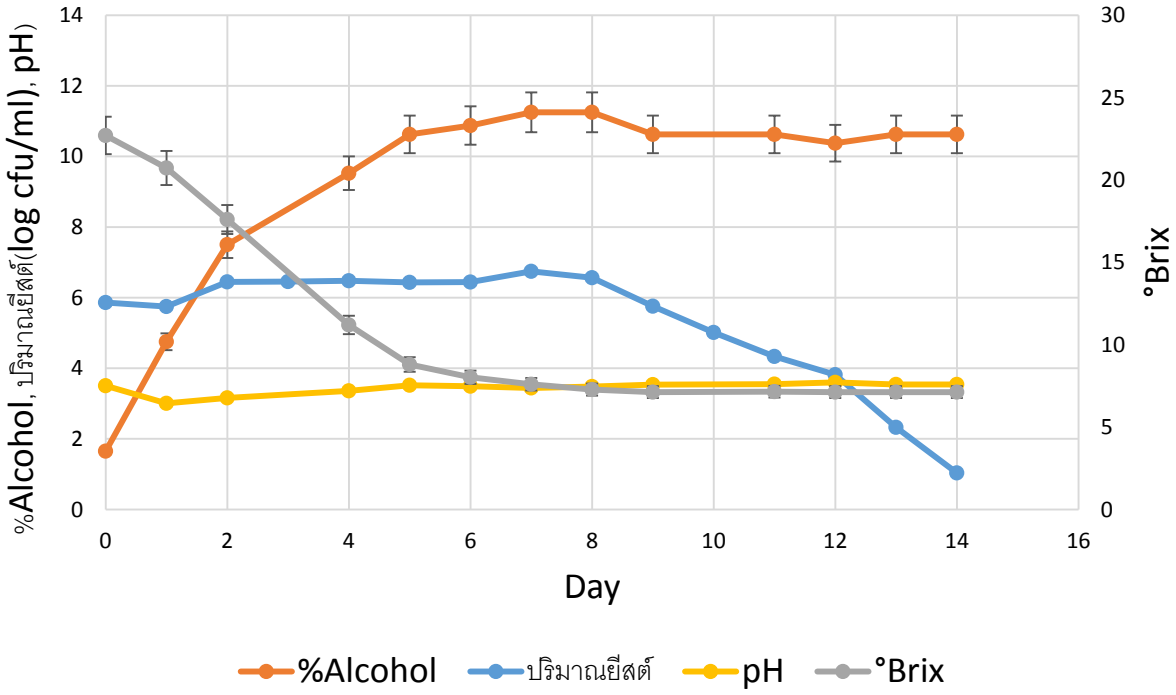
| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | |
| | 1:3 | 8 | 9 | 8 | 8.33±0.58 |
| EC-1118 | 3:1 | 9 | 9 | 7 | 8.33±1.15 |
| | 1:1 | 9 | 9 | 8 | 8.67±0.58 |
| | 1:3 | 7 | 7 | 10 | 8.00±1.73 |
| K1-V1116 | 3:1 | 7 | 9 | 8 | 8.00±1.00 |
| | 1:1 | 10 | 9 | 5 | 8.00±2.65 |
| | 1:3 | 10 | 11 | 10 | 10.33±0.58 |

**4.2 ศึกษารูปแบบการหมักเพื่อผลิตน้ำหมักสำหรับทำเครื่องปรุงรส**

จากผลการทดลองตอนที่ 4.1 พบว่าน้ำมะม่วงหมักโดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ Lalvin EC-1118 ในอัตราส่วนเนื้อมะม่วงปั่นต่อน้ำ คือ 1:1 (v/v) ได้รับความชอบทางประสาทสัมผัสมากที่สุด จึงเลือกน้ำมะม่วงหมักในสภาวะดังกล่าวมาศึกษารูปแบบการหมักอย่างเป็นระบบ โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) การเจริญเติบโตของยีสต์ (Populations) ค่าของแข็งการละลายน้ำ (TSS) ปริมาณแอลกอฮอล์ (%Alcohol) และวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์และน้ำตาล

จากการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงค่าต่างๆ ของน้ำหมักมะม่วงที่มีค่า TSS เริ่มต้น 22 ºBrix ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4.1 พบว่าปริมาณค่า TSS ระว่างการหมักมีค่าลดลง ซึ่งสอดคล้องกับค่าปริมาณแอลกอฮอล์ที่มีค่าเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตและเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ระหว่างเกิดการหมัก วันที่ 0-4 ของการหมักปริมาณแอลกอฮอล์ในช่วงแรกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นเพราะมีปริมาณน้ำตาลอยู่มากและจำนวนยีสต์ยังไม่หนาแน่น ทำให้ยีสต์เกิดการเจริญเติบโตและสร้างแอลกอฮอล์อย่างอิสระ เมื่อเข้าสู่วันที่ 5-6 ของการหมักปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นช้าลงเพราะปริมาณน้ำตาลลดลงและจำนวนยีสต์หนาแน่นขึ้นทำให้เกิดการแย่งน้ำตาลเพื่อเจริญเติบโตและสร้างแอลกอฮอล์ และเมื่อเข้าสู่วันที่ 7 ของการหมักปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นน้อยมากหรือไม่เพิ่มขึ้นเลย เพราะน้ำตาลเหลือน้อยมากแล้วแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นทำให้สภาวะไม่เหมาะแก่การเจริญเติบโตของยีสต์และมียีสต์บางส่วนเริ่มตายทำให้เกิดการสร้างแอลกอฮอล์น้อยมาก

จากรูปที่ 4.1 พบว่าปริมาณน้ำตาลลดลงและปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 4 วันแรก เนื่องจากในช่วงแรกของการหมักยีสต์ต้องใช้น้ำตาลเพื่อรักษาค่าแรงดันออสโมติกภายในเซลล์ (Patricia และคณะ, 2003) เนื่องจากน้ำมะม่วงมีค่า TSS มาก จึงทำให้ยีสต์นำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์อย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดการหมักและสร้างแอลกอฮอล์อย่างรวดเร็วในช่วงแรก เมื่อปริมาณน้ำตาลภายในน้ำมะม่วงลดลง ทำให้ค่าแรงดันออสโมติกระหว่างภายในและภายนอกมีความแตกต่างกันน้อยลงทำให้การเพิ่มขึ้นของปริมาณแอลกอฮอล์และการลดลงของน้ำตาลช้าลง ซึ่งปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลที่ลดลงดังรูป และปริมาณยีสต์ในการหมักพบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ และลดลงในวันที่ 8 ของการหมักเนื่องจากในวันที่ 8 มีน้ำตาลน้อยและมีปริมาณแอลกอฮอล์มากซึ่งแอลกอฮอล์เป็นพิษต่อเซลล์และรวมถึงยีสต์เข้าสู่ช่วงการตายทำให้ปริมาณยีสต์ลดลง




รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักน้ำมะม่วงโดยใช้ยีสต์Saccharomyces cerevisiae สายพันธุ์ Lalvin EC-1118ที่มีค่า TSS เริ่มต้น 22 °Brix หมักที่อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

จากการติดตามค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH) ของการหมักน้ำมะม่วงเริ่มต้น pH 3.505 พบว่าค่า pH มีค่าลดลงในวันที่ 1 ของการหมักเป็น pH 3.005 และมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนวันที่ 14 ของการหมัก เมื่อยุติการหมักค่า pH เป็น 3.540 เกิดจากการการที่ยีสต์ใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตและสร้างแอลกอฮอล์ขึ้นทำให้ค่า pH มีการเปลี่ยนแปลงไป จากตารางที่ 4.3 พบว่าระหว่างการหมัก 14 วัน ค่า pH เปลี่ยนแปลงเนื่องจากยีสต์มีการสร้างกรดอะซิติก ระหว่างการหมัก และสร้างกรดซักซินิก จากการเผาผลาญไนโตรเจน (Michael และคณะ, 2013)

**ตารางที่ 4.3** ค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH) หลังการหมัก 14 วัน

| ตัวอย่างที่ 1 | ตัวอย่างที่ 2 | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|
| 3.53 | 3.48 | 3.51±0.04 |
| 3.02 | 2.99 | 3.01±0.02 |
| 3.15 | 3.17 | 3.16±0.01 |
| 3.20 | 3.21 | 3.21±0.01 |
| 3.36 | 3.36 | 3.36±0.00 |
| 3.52 | 3.52 | 3.52±0.00 |
| 3.50 | 3.48 | 3.49±0.01 |
| 3.51 | 3.37 | 3.44±0.10 |
| 3.43 | 3.53 | 3.48±0.07 |
| 3.53 | 3.54 | 3.54±0.01 |
| 3.53 | 3.54 | 3.54±0.01 |
| 3.57 | 3.53 | 3.55±0.03 |
| 3.58 | 3.60 | 3.59±0.01 |
| 3.62 | 3.46 | 3.54±0.11 |
| 3.62 | 3.46 | 3.54±0.11 |
| 3.53 | 3.48 | 3.51±0.04 |

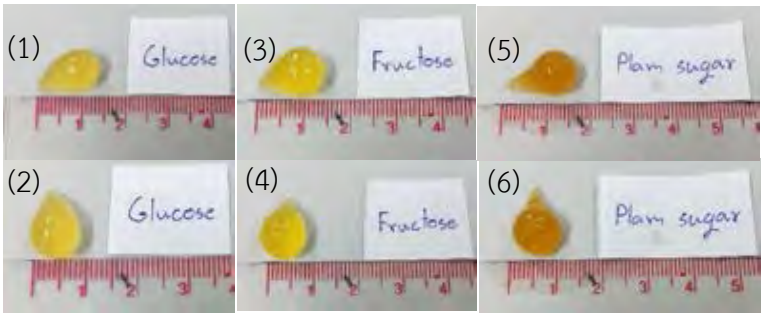
จากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์และน้ำตาลในไวน์มะม่วงด้วยวิธี HPLC พบว่ามีกรดซิตริกมีปริมาณสูงที่สุด เนื่องจากมีการใช้กรดซิตริกในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วง 3.5-3.8 เพื่อให้สภาวะเหมาะสมกับการเจริญของยีสต์ รองลงมาคือกรดอะซิติก กรดซักซินิก และกรดมาลิก ตามลำดับ และมีน้ำตาลซูโครสปริมาณมากที่สุด เนื่องจากมีการใช้น้ำตาลซูโครสในการปรับค่า TSS เป็น 22 °Brix รองลงมาคือฟรุกโตสและน้ำตาลกลูโคส ตามลำดับ

**ตารางที่ 4.4** ชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์และน้ำตาลในไวน์มะม่วง

| **ชนิดกรด** | **ปริมาณกรดอินทรีย์(g/L)** |
|---|---|
| Citric acid | 5.032± 0.090 |
| Acetic acid | 1.951± 0.005 |
| Succinic acid | 3.046± 1.709 |
| Malic acid | 0.597± 0.313 |
| Total | 10.625±0.401 |
| **ชนิดน้ำตาล** | **ปริมาณน้ำตาล(g/100mL)** |
| Fructose | 0.099±0.019 |
| Glucose | 0.057±0.005 |
| Sucrose | 1.906±0.052 |
| Total | 2.062±0.008 |

**4.3 แนวทางการใช้เครื่องปรุงรสมะม่วง**

เม็ดบีดส์ที่เกิดจากการนำเครื่องปรุงรสมาทำ reverse spherification โดยหยดในปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร พบว่า เม็ดบีดส์มีลักษณะเป็นทรงหยดน้ำ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร มีค่า TSS เท่ากับ 40°Brix มีปริมาณแอลกอฮอล์ 0.024%ต่อเม็ดบีดส์




รูปที่ 4.2 ขนาดเม็ดบีดส์ที่ผสมสารให้ความหวาน (1)กลูโคสไซรัป ด้านยาว (2)กลูโคสไซรัป ด้านกว้าง (3)ฟรุกโตสไซรัป ด้านยาว (4)ฟรุกโตส ด้านกว้าง (5)น้ำตาลมะพร้าว ด้านยาว (6)น้ำตาลมะพร้าว ด้านกว้าง

**4.4 การยอมรับทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่ม**

จากการทดลองการยอมรับทางด้านประสาทของเครื่องดื่ม พบว่าผู้ทดสอบมีความชื่นชอบน้ำหมักมะม่วงที่เติมฟรุกโตสไซรัปมากที่สุด โดยได้รับคะแนนด้านสี กลิ่น รสชาติ สัมผัสและความชอบโดยรวมสูงสุด และมีความชอบด้านกลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมที่แตกต่างจากน้ำมะม่วงหมักชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากน้ำตาลฟรุกโตสมีรสชาติที่หวานอร่อย มีความหวานมากว่าน้ำตาลทราย มีค่าความหวานสัมพัทธ์( relative sweetness) อยู่ที่ 140 ซึ่งมากกว่า น้ำตาลกลูโคสที่มีค่าความหวานสัมพัทธ์อยู่ที่ 70-80 และน้ำตาลมะพร้าว ซึ่งมีน้ำตาลซูโครสเป็นองค์ประกอบหลักที่มีค่าความหวานสัมพัทธ์อยู่ที่ 100 (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, มปป.)

**ตารางที่ 4.5** คะแนนทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่ม

| ตัวอย่าง | สี | กลิ่น | รสชาติ | สัมผัส | ความชอบโดยรวม |
|---|---|---|---|---|---|
| กลูโคส | $5.40\pm0.89^{a}$ | $4.67\pm1.09^{b}$ | $4.23\pm1.3^{b}$ | $5.20\pm0.96^{a}$ | $4.93\pm1.17^{b}$ |
| ฟรุกโตส | $5.97\pm0.93^{a}$ | $5.67\pm0.84^{a}$ | $6.20\pm1.06^{a}$ | $5.67\pm0.92^{a}$ | $6.00\pm1.11^{a}$ |
| มะพร้าว | $4.40\pm1.52^{b}$ | $4.63\pm1.35^{b}$ | $4.53\pm1.38^{b}$ | $5.06\pm1.17^{a}$ | $4.80\pm0.92^{b}$ |

หมายเหตุ : ตัวอักษร a และ b เป็นค่าสถิติตามแนวคอลัมน์ที่แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P\leq0.05$); n=30 , ± หมายถึง ± ค่า SD

ตัวอักษร a คือกลุ่มที่มีความชอบมากกว่า และตัวอักษร b คือกลุ่มที่มีความชอบน้อยกว่า

# บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย

## 5.1 ประเมินสภาวะการหมักมะม่วงน้ำดอกไม้ด้วยยีสต์

จากการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ทางการค้าที่เหมาะสมกับคุณสมบัติที่ต้องการและหาความเข้มข้นของน้ำมะม่วงในการหมัก ได้ยีสต์*Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ Lalvin EC-1118 และความเข้มข้นของน้ำมะม่วงในอัตราส่วนเนื้อมะม่วงปั่นต่อน้ำ คือ 1:1(v/v)

## 5.2 ศึกษารูปแบบการหมักเพื่อผลิตน้ำหมักสำหรับทำเครื่องปรุงรส

จากการหมักน้ำมะม่วงหมักโดยใช้ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ Lalvin EC-1118 ในอัตราส่วนเนื้อมะม่วงปั่นต่อน้ำ คือ 1:1 (v/v) มีค่า 22.0±0.5 %Brix pH ให้อยู่ในช่วง 3.5-3.8 อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เมื่อวิเคราะห์ปริมาณและชนิดกรดอินทรีย์และน้ำตาลด้วยวิธี HPLC พบว่า ไวน์ประกอบด้วย กรดซิตริก (5.03179± 0.0905 g/L) กรดอะซิติก (1.95063± 0.00482 g/L) กรดซักซินิก (3.04573± 1.70892 g/L) และกรดมาลิก (0.59727± 0.31319 g/L) มีน้ำตาลฟรุกโตส (0.09882±0.01894 g/100ml) และน้ำตาลกลูโคส (0.05705±0.00046 g/100ml)

## 5.3 การยอมรับทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่ม

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่มลิ้นจี่โซดาผสมเม็ดบีดส์เครื่องปรุงรสน้ำมะม่วงพบว่าคะแนนด้านสีของเม็ดบีดส์ที่ผสมกลูโคสไซรัปและเม็ดบีดส์ที่ผสมฟรุกโตสไซรัปไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและมีคะแนนสูงกว่าเม็ดบีดส์มี่ผสมน้ำตาลมะพร้าวอย่ามีนัยสำคัญ คะแนนด้านกลิ่น คะแนนด้านรสชาติและคะแนนความชอบโดยรวมของเม็ดบีดส์ที่ผสมฟรุกโตสไซรัปมีคะแนนสูงและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเม็ดบีดส์อีก 2 ชนิด และคะแนนด้านสัมผัสพบว่าเม็ดบีดส์ทั้ง 3 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

**บรรณานุกรม**

ประวัติโดยย่อของKahlúa เครื่องดื่มเหล้าที่มีชื่อเสียงที่สุดของเม็กซิโก. ค้นเมื่อ 29 มิถุนายน 2562, https://th.yourtripagent.com/brief-history-of-kahl-mexico-s-most-famous-liqueur-2234.

พัชรี คำประเวช และสุธีรา วัฒนกุล.(2561). การผลิตเม็ดบีดส์น้ำเสาวรสด้วยเทคนิครีเวิร์สสเฟียริฟิเคชัน Producing Passion Fruit Beads by Reverse Spherification Technique. วารสารวิทยาศาสตรและเทคโนโลยี. 26(8), 1381-1393.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. Fermentation / การหมัก. ค้นเมื่อ 16 เมษายน 2561, http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0316/fermentation-การหมัก.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. Fermented soy sauce / ซีอิ๊ว. ค้นเมื่อ 16 กันยายน 2561, http://www.foodnetworksolution..com/wiki/word/1435/fermented-soy-sauce-ซีอิ๊ว.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. Fructose / น้ำตาลฟรักโทส. ค้นเมื่อ 8 กรกฎาคม 2562, http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1098/fructose-น้ำตาลฟรักโทส

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. Vinegar / น้ำส้มสายชู.ค้นเมื่อ 16 กันยายน 2561, http://www.foodnetworksolution.com /wiki/word/1 1 8 3 / vinegar-น้ำ ส้ ม ส า ย ชู .

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. Yeast / ยีสต์. ค้นเมื่อ 16 เมษายน 2561, http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0555/yeast-ยีสต์.

ม.ป.ช. มะม่วงน้ำดอกไม้. ค้นเมื่อ 16 กันยายน 2561, https://www.thaithaifood.com/th/มะม่วงน้ำดอกไม้

ยอดหทัย เทพธรานนท์.(2543). การตรวจสอบหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์. ปทุมธานี : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

วิทวัส ขวัญเมือง. (2557). การปรับสภาพเบื้องต้นและการผลิตไวน์จากผลแก้วมังกรแดง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุราไทย. ยีสต์และการหมักไวน์. ค้นเมื่อ 16 เมษายน 2561, https://surathai.wordpress.com/2010/06/12/yeastwine.

สุริยา ทุดปอ และจิตรา สิงห์ทอง.(2560) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของแก่นตะวันที่มีอายุการเก็บเกี่ยวต่างกัน. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิยาลัยอุบลราชธานี ,19(3).

Andrea Nguyen. (2010). Shaoxing rice wine: where and how to buy it. ค้นเมื่อ 13 มิถุนายน 2562, https://www.vietworldkitchen.com/blog/2010/02/shaoxing-rice-wine-where-and-how-to-buy-it.html

A. Pihlanto and H. Korhonen.(2015). Bioactive peptides from fermented foods and health promotion. Advances in Fermented Foods and Beverages, 39-74.

Ashwini Gengatharan, Gary A. Dykes, Wee Sim Choo. (2015). Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods. LWT - Food Science and Technology. 64(2): 645-649.

Bernard F.Gibbs ,AlexandreZougman , RobertMasse and CatherineMulligan. (2004). Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolysate and soy-fermented food. Food Research International(37), 123-131.

Delia B. Rodriguez-Amaya. (2018). Update on natural food pigments - A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. Food Research International. Available online 19 May 2018.

Eduardo Medina, Antonio de Castro, Concepción Romero, Eva María Ramírez and Manuel Brenes. (2016). chapter 18 - Safety of Fermented Fruits and Vegetables. Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods, 335-367.

Food&Drink.A Guide To Where Your Vinegar Comes From, And How To Use It.ค้นเมื่อ 16 กันยายน 2561, https://www.huffingtonpost.com/2014/11/24/vinegar-guide_n_1380713.html.

Francis Zee1 , Chung-Ruey Yen2 , and Melvin Nishina. (2004). Pitaya (Dragon Fruit, Strawberry Pear). Fruits and Nuts, 9.

Haiyan Yu, Tong Xie, Jingru Xie, Lianzhong Ai, Huaixiang Tian. (2019). Characterization of key aroma compounds in Chinese rice wine using gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-olfactometry. Food chemistry, 293, 8-14.

HaruoOyashiki , MasahiroUchida , AkiraObayashi and SatoruOka. (1989). Evaluation of *koji* prepared with various molds for *mirin*-making. JOURNAL OF FERMENTATION AND BIOENGINEERING, 67(3), 163-168.

Jay. (2011). 5 Lalvin Yeast And How To Use Them. ค้นเมื่อ 8 กรกฎาคม 2562, https://www.jaysbrewing.com/2011/10/12/5-lalvin-yeast-how-to-use-them/

Kahlua.ค้นเมื่อ 29 มิถุนายน 2562, https://www.kahlua.com/

Katsumi Hashizume, Toshihiko Ito, Takahiro Ishizuka, and Naoki Takeda.(2013). Formation of ethyl ferulate by rice koji enzyme in sake and mirin mash conditions. Journal of Bioscience and Bioengineering, 116(2), 209-213.

Nagi. (2018). Shaoxing Wine – Chinese Cooking Wine. ค้นเมื่อ 14 มิถุนายน 2562, https://www.recipetineats.com/shaoxing-wine-chinese-cooking-wine/.

Patricia L. Pratt, James H. Bryce, and Graham G. Stewart.(2003). The Effects of Osmotic Pressure and Ethanol on Yeast Viability and Morphology. Journal of the Institute of Brewing, pp. 218-228.

Rodriguez-Amaya, B. D. Update on natural food pigments - A mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. Food Research International.

Ronald S. Jackson.(2014). Wine Science Principles and Applications. 4th edition. Elsevier Inc. 428-429, 479-497.

V.K. Joshi, P.S. Panesar, V.S. Rana and S. Kaur.(2017). Chapter 1 - Science and Technology of Fruit Wines: An Overview. Science and Technology of Fruit Wine Production, 1-72.

Wikipedia.Vinegar. ค้นเมื่อ 16 กันยายน 2561, https://en.wikipedia.org/wiki/Vinegar.

Wikipedia. Soy sauce. ค้นเมื่อ 16 กันยายน2561,https://en.wikipedia.org/wiki/Soy_sauce#Production.

Wikipedia. Mirin. ค้นเมื่อ 16 กันยายน 2561, https://en.wikipedia.org/wiki/Mirin.

Young, E. P. (2016). Mango : Production, Properties and Health Benefits. Hauppauge, New York: Nova Science Publishers, Inc. 2.

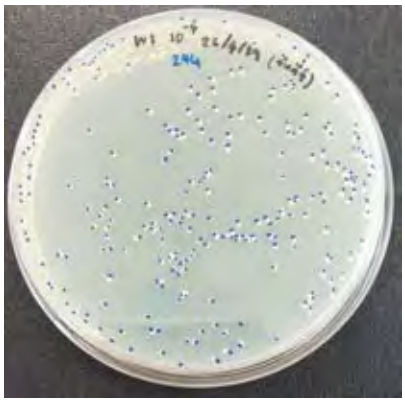
# ภาคผนวก

# ภาคผนวก ก.

## ขั้นตอนการทดลอง

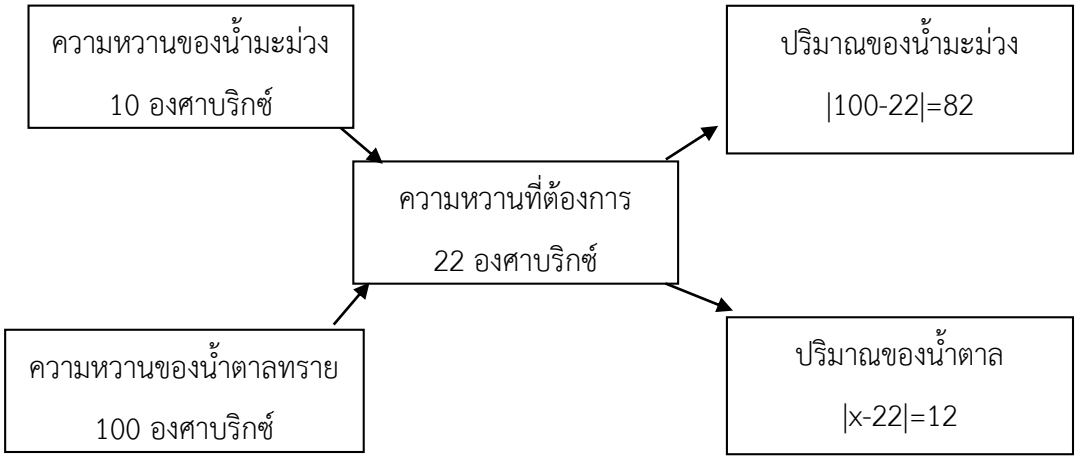
### 1. การเปลี่ยนแปลงประชากรเซลล์ยีสต์ ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้น YM

1. เตรียมจานอาหารวุ้น YM
2. สุ่มตัวอย่างไวน์ที่หมักในแต่ละวันมาทำการเจือจางที่ $10^{-4}$ และ $10^{-6}$ หรือเจือจางตามแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลง
3. หยดไวน์ที่เจือจางแล้ว 0.1 ml ลงบนจานอาหารวุ้น YM
4. เกลี่ยไวน์ให้ทั่วจานอาหารวุ้น YM ด้วยแท่งแก้วรูปตัวแอลที่เผาไฟและรอให้เย็นแล้ว ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ
5. นำจานอาหารวุ้น YM จากข้อ 4. ไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
6. นับเชื้อโดยคิดว่า 1 โคโลนีคือเชื้อ 1 ตัว ค่าที่ได้จะต้องอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนีเพื่อลดค่าความผิดพลาดที่จะเกิดขึ้น



รูปที่ ผ.1 จานอาหารวุ้น YM

**2. วิธีการคำนวณเพียร์สัน สแควร์**




ถ้าต้องการหมัก 2 ลิตร จะต้องใช้น้ำมะม่วงและน้ำตาล ดังนี้

ปริมาณน้ำมะม่วง = $\frac{82}{82+12} \times 2$ลิตร = 1.745 กิโลกรัม

ปริมาณน้ำตาล = $\frac{12}{82+12} \times 2$ลิตร = 0.255 กิโลกรัม

# ภาคผนวก ข.

# ข้อมูลการทดลอง

## 1.ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

การคำนวณ ANOVA : สี

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: color

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Corrected Model | 37.756[a] | 2 | 18.878 | 14.236 | .000 |
| Intercept | 2485.878 | 1 | 2485.878 | 1874.643 | .000 |
| trt | 37.756 | 2 | 18.878 | 14.236 | .000 |
| Error | 115.367 | 87 | 1.326 | | |
| Total | 2639.000 | 90 | | | |
| Corrected Total | 153.122 | 89 | | | |

a. R Squared = .247 (Adjusted R Squared = .229)

การคำนวณ ANOVA : กลิ่น

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: aroma

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Corrected Model | 20.689[a] | 2 | 10.344 | 8.310 | .000 |
| Intercept | 2240.011 | 1 | 2240.011 | 1799.455 | .000 |
| trt | 20.689 | 2 | 10.344 | 8.310 | .000 |
| Error | 108.300 | 87 | 1.245 | | |
| Total | 2369.000 | 90 | | | |
| Corrected Total | 128.989 | 89 | | | |

a. R Squared = .160 (Adjusted R Squared = .141)

## การคำนวณ ANOVA : รสชาติ

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: taste

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Corrected Model | 67.356[a] | 2 | 33.678 | 21.288 | .000 |
| Intercept | 2240.011 | 1 | 2240.011 | 1415.943 | .000 |
| trt | 67.356 | 2 | 33.678 | 21.288 | .000 |
| Error | 137.633 | 87 | 1.582 | | |
| Total | 2445.000 | 90 | | | |
| Corrected Total | 204.989 | 89 | | | |

a. R Squared = .329 (Adjusted R Squared = .313)

## การคำนวณ ANOVA : สัมผัส

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: texture

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Corrected Model | 5.956[a] | 2 | 2.978 | 2.836 | .064 |
| Intercept | 2538.711 | 1 | 2538.711 | 2418.261 | .000 |
| trt | 5.956 | 2 | 2.978 | 2.836 | .064 |
| Error | 91.333 | 87 | 1.050 | | |
| Total | 2636.000 | 90 | | | |
| Corrected Total | 97.289 | 89 | | | |

a. R Squared = .061 (Adjusted R Squared = .040)

## การคำนวณ ANOVA : ความชอบโดยรวม

**Tests of Between-Subjects Effects**

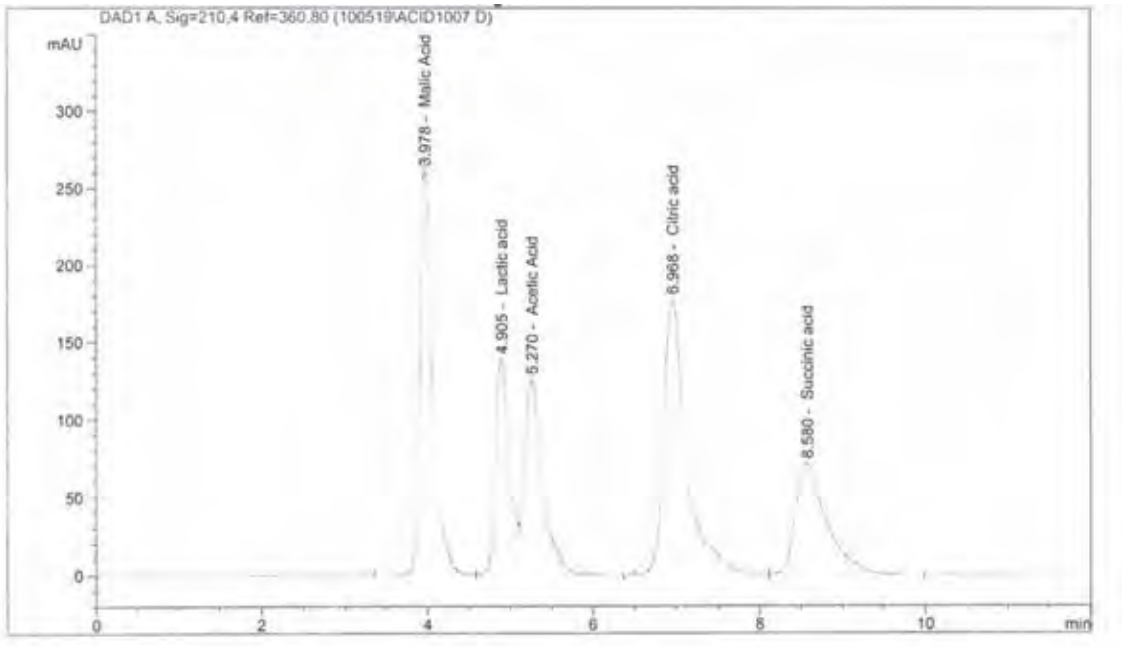
Dependent Variable: overall

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Corrected Model | 25.956[a] | 2 | 12.978 | 11.680 | .000 |
| Intercept | 2475.378 | 1 | 2475.378 | 2227.840 | .000 |
| trt | 25.956 | 2 | 12.978 | 11.680 | .000 |
| Error | 96.667 | 87 | 1.111 | | |
| Total | 2598.000 | 90 | | | |
| Corrected Total | 122.622 | 89 | | | |

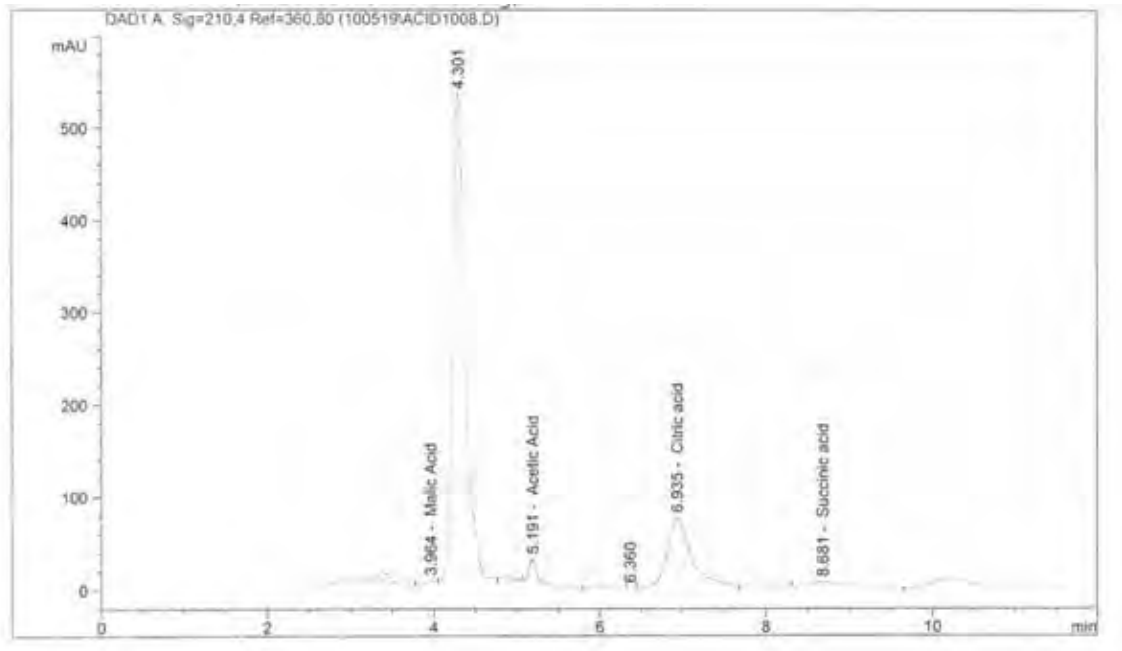
a. R Squared = .212 (Adjusted R Squared = .194)

**2.ผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC**

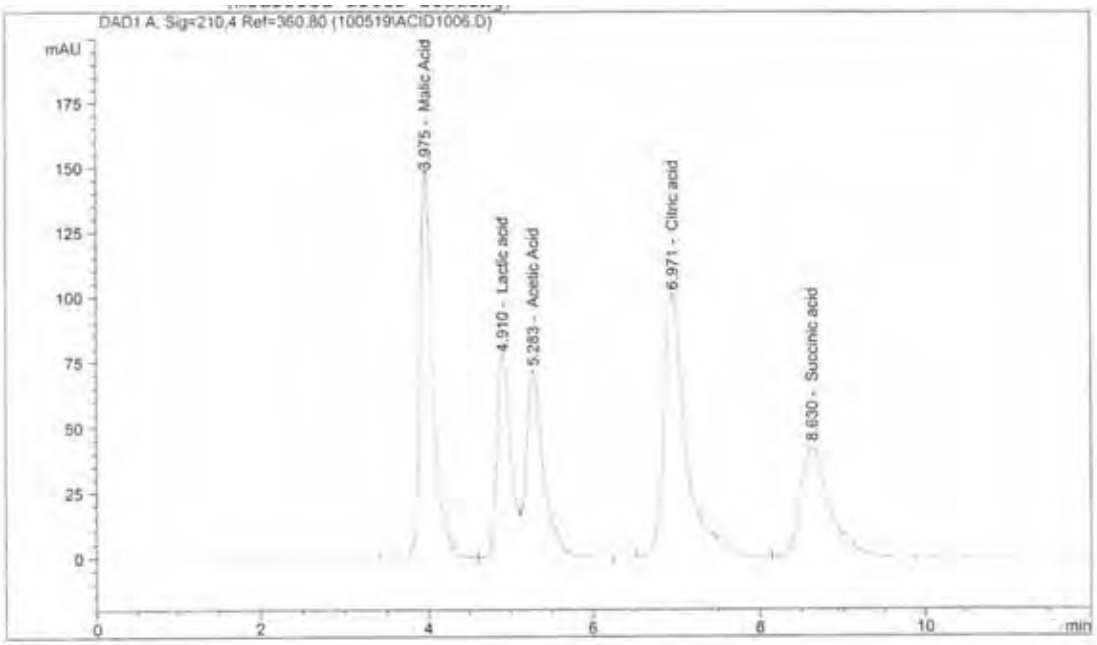
**วิเคราะห์กรดอินทรีย์**



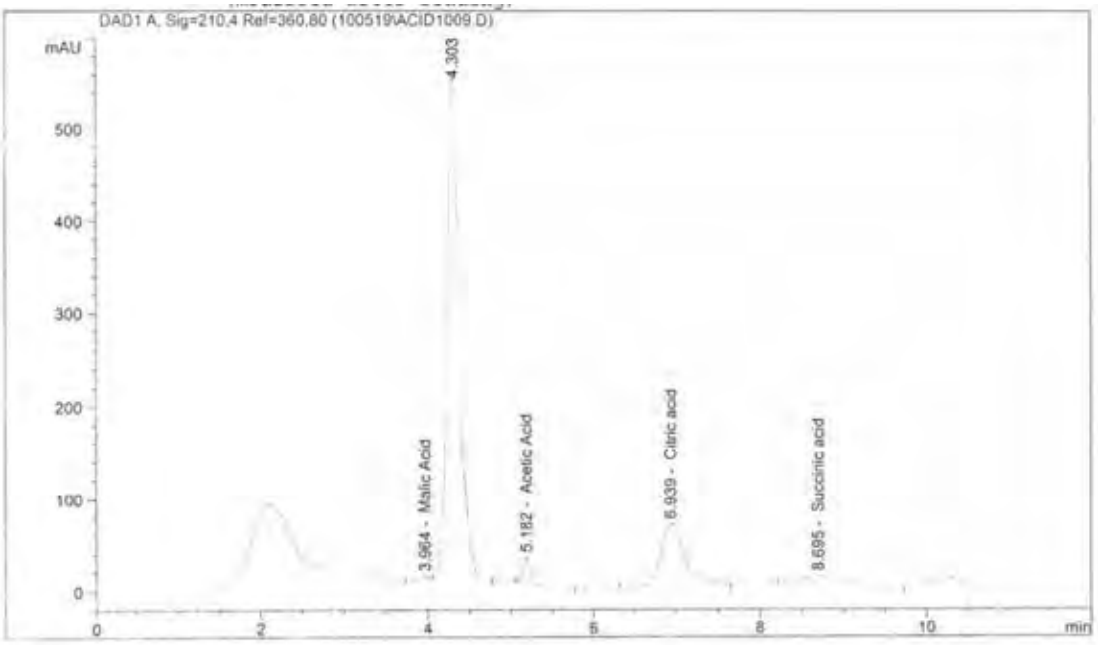

รูปที่ ผ.2 กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ตัวอย่างที่ 1




รูปที่ ผ.3 กราฟผลการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ตัวอย่างที่ 1

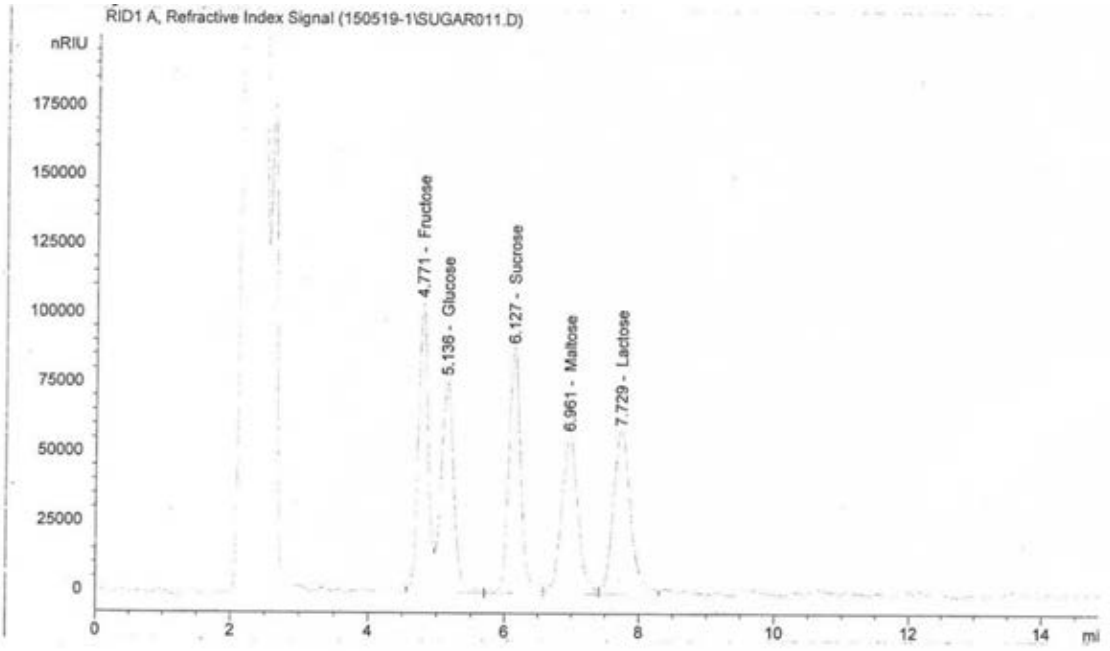



รูปที่ ผ.4 กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ตัวอย่างที่ 2

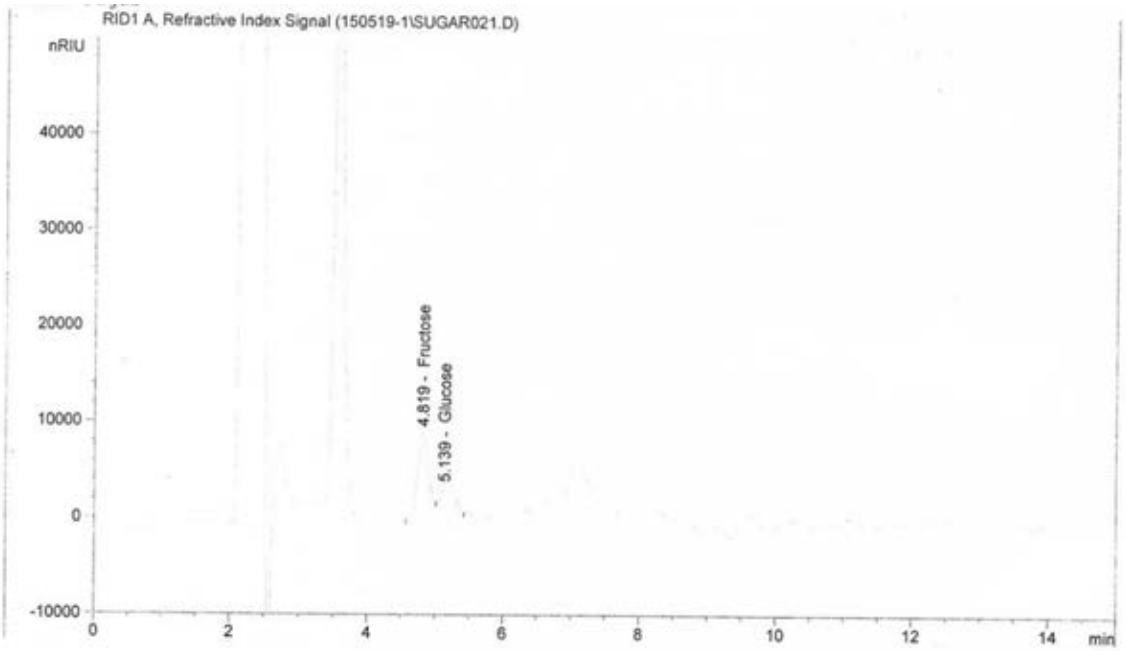



รูปที่ ผ.5 กราฟผลการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ตัวอย่างที่ 2

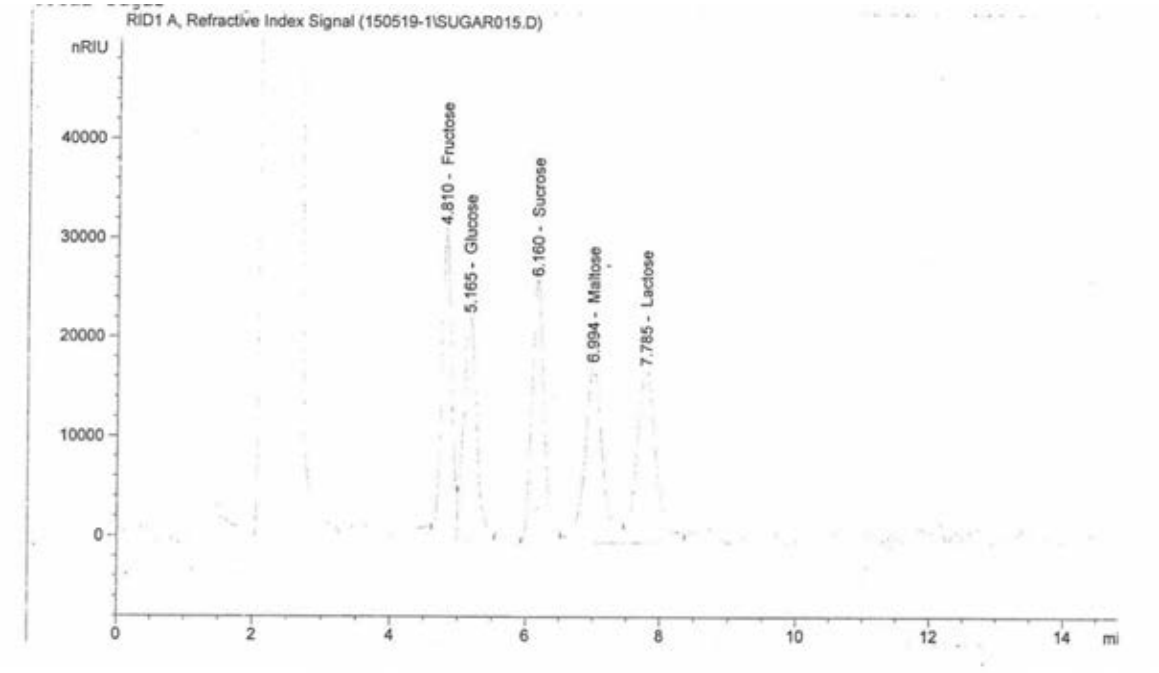
**วิเคราะห์น้ำตาล**



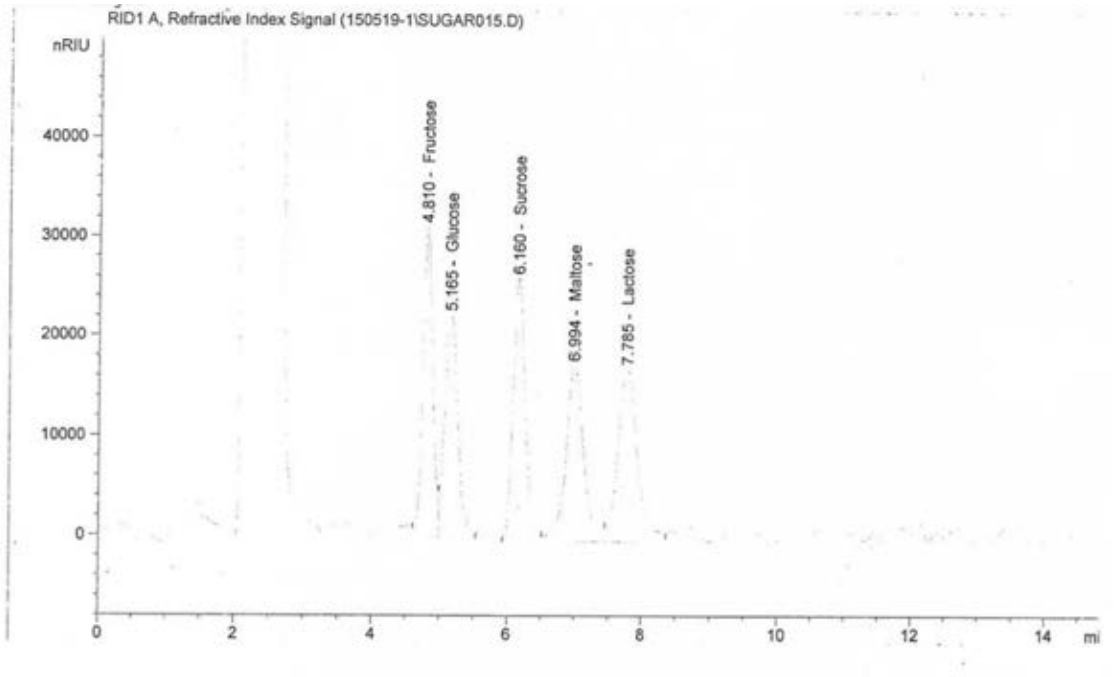

รูปที่ ผ.6 กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์น้ำตาลตัวอย่างที่ 1




รูปที่ ผ.7 กราฟผลการวิเคราะห์น้ำตาลตัวอย่างที่ 1




รูปที่ ผ.8 กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์น้ำตาลตัวอย่างที่ 2




รูปที่ ผ.9 กราฟผลการวิเคราะห์น้ำตาลตัวอย่างที่ 2

## ภาคผนวก ค.
## ข้อมูลยีสต์ทางการค้า

**ตาราง ผ.1** ความสามารถของยีสต์สายพันธุ์ Lalvin

| | RC 212 | ICV D47 | 71B-1122 | K1-V1116 | EC-1118 | QA23 | BM 4x4 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Dry whites | * | **** | ** | *** | *** | **** | * |
| Blush or R.S. whites | * | **** | **** | ** | ** | ** | * |
| Nouveau | * | * | **** | ** | ** | * | * |
| Young reds | **** | * | **** | ** | ** | ** | *** |
| Aged reds | **** | * | ** | *** | *** | * | **** |
| Champagne base | * | * | * | ** | **** | **** | * |
| Secondary ferment | * | * | * | * | **** | *** | * |
| Stuck fermentations | * | * | * | *** | **** | *** | * |
| Late harvest | * | * | *** | *** | **** | *** | * |
| Sensory effect | E.V.C. | E.V.C. | Esters | Neutral | Neutral | E.V.C. | E.V.C. |
| Temp. Range (°Celsius) | 20-30 | 15-20 | 15-30 | 10-35 | 10-30 | 15-32 | 16-28 |
| Fermentation speed | Moderate | Moderate | Moderate | Moderate | Very fast | Fast | Moderate |
| Alcohol tolerance (%/vol) | 16% | 14% | 14% | 18% | 18% | 16% | 16% |
| Nutritional requirements | High | Low | Low | Low | Low | Low | High |
| | | | | | | | |
| Mead | | X | | | X | X | |
| Cider | | X | X | | | X | |

****** Strongest recommendation — E.V.C.: Enhances Varietal Character**

**ภาคผนวก ง.**

**แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส**

**แบบทดสอบความชื่นชอบผลิตภัณฑ์จากเครื่องปรุงรส**

**คำชี้แจง** กรุณาทำเครื่องหมาย/ลงในตารางเพื่อบอกระดับความชื่นชอบของผลิตภัณฑ์

ชื่อผู้ทดสอบ..... วันที่.....

เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง

| ลักษณะคุณภาพ | ตัวอย่าง | | |
|---|---|---|---|
| | รหัส..... | รหัส..... | รหัส..... |
| สี | | | |
| กลิ่น | | | |
| รส | | | |
| สัมผัส | | | |
| ความชอบโดยรวม | | | |

หมายเหตุ 1=ไม่ชอบมากที่สุด 2=ไม่ชอบปานกลาง 3=ไม่ชอบเล็กน้อย
4=เฉยๆ 5=ชอบเล็กน้อย 6=ชอบปานกลาง 7=ชอบมากที่สุด

**การยอมรับตัวอย่าง**: ท่านยอมรับรสชาติของตัวอย่างหรือไม่

| รหัสตัวอย่าง | ..... | ..... | ..... |
|---|---|---|---|
| ยอมรับ | | | |
| ไม่ยอมรับ | | | |

**ข้อเสนอแนะ**

.....

.....

## ประวัติผู้วิจัย


**ชื่อ-สกุล** นายทักษิณ ศรีธนกฤตาธิการ

**ตำแหน่ง** หัวหน้าโครงการ

**วุฒิการศึกษา** วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)

**ภาควิชา** เทคโนโลยีทางอาหาร

**คณะ** วิทยาศาสตร์

**มหาวิทยาลัย** จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ปีที่สำเร็จการศึกษา** 2561

**โทรศัพท์** 084-643-8857

**Email** taksin.hao@hotmail.com

**ชื่อ-สกุล** นายพัสกร เงินเจริญ

**ตำแหน่ง** ผู้ร่วมวิจัย

**วุฒิการศึกษา** วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)

**ภาควิชา** เทคโนโลยีทางอาหาร

**คณะ** วิทยาศาสตร์

**มหาวิทยาลัย** จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ปีที่สำเร็จการศึกษา** 2561

**โทรศัพท์** 080-548-6392

**Email** Phatsakon15242@gmail.com