บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ประเทศไทยมีผลไม้ที่มีความหลากหลาย ผลไม้ไทยมีคุณสมบัติและรสชาติที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวในแต่ละฤดูกาล ฤดูร้อนมีเงาะ กระท้อน ชมพู่ ทุเรียน มะปราง มะม่วง ขนุน ลิ้นจี่ ฤดูฝนมีมังคุด ระกำ ลำไย ส้มโอ ลองกอง สาลี่ น้อยหน่า ฤดูหนาวมีองุ่น มะขาม ส้มเขียวหวาน สตรอเบอรี่ และมีผลไม้ที่ผลิตออกทั้งปีได้แก่ กล้วย มะละกอ ฝรั่ง สับปะรด เป็นต้น (พัฒนาผลิตภัณฑ์, 2543) ผลไม้ในแต่ละภาคก็มีลักษณะแตกต่างกันทั้งในเรื่องของรสชาติและภาพลักษณ์ โดยเฉพาะผลไม้ในฤดูกาลที่ผลิตออกมามาก ทำให้มีผลไม้บางชนิดล้นตลาดขายได้ไม่หมดและเน่าเสียเป็นจำนวนมาก ดังนั้นการนำผลไม้ที่มีปริมาณมากในท้องถิ่นมาหมักไวน์เป็นการเพิ่มมูลค่าของผลไม้ ไวน์ไทยนอกจากเป็นสินค้าแปรรูปจากผลิตผลทางการเกษตรที่ช่วยเชื่อมโยงการผลิตจากภาคการเกษตรมาสู่ภาคอุตสาหกรรมโดยสามารถเพิ่มมูลค่าการผลิตให้สูงขึ้นแล้ว ยังช่วยสร้างรายได้ให้กับคนในประเทศได้อีกทางด้านทำให้เกิดการจ้างแรงงานภายในท้องถิ่นและสร้างรายได้จากการส่งออกตลอดจนช่วยทดแทนการนำเข้าไวน์นอก (ช่อผกา แก้วใหญ่ และคณะ, 2542) ซึ่งมีการนำเข้าสูงถึงปีละนับร้อยล้านบาท ดังเช่นไตรมาทแรกของปี 43 ได้มีการนำเข้าไวน์คิดเป็นมูลค่าถึง 104,005,000 บาท (พัฒนาผลิตภัณฑ์, 2543) ปัจจุบันรัฐบาลได้เปิดให้มีการผลิตและขายไวน์ได้อย่างเสรี การเปิดเสรีไวน์นั้นทำให้ไวน์เกิดการพัฒนาขึ้นในหลายรูปแบบเช่น ไวน์ผลไม้ ไวน์สมุนไพร สาโท สาเก อุ ฯลฯ

ผลไม้เศรษฐกิจที่ปลูกและมีชื่อเสียงทางภาคใต้คือ สับปะรด (*Ananas comosus (L) Merr.*) โดยเฉพาะสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตเป็นสับปะรดที่มีลักษณะเฉพาะตัวคือมีเยื่อน้อย กรอบ สีจัด รสหวานแหลม และหอมแรง สับปะรดพันธุ์นี้ปลูกมากในท้องที่จังหวัดภูเก็ตและจังหวัดชุมพร ในแถบพัทลุงได้มีการปลูกสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียซึ่งเป็นสับปะรดที่นิยมบริโภคสดเช่นกัน จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสับปะรด (Jayaraman *et al*., 1975; Morgan (1966); Will *et al*.,1986; Simpson *et al*.,1984; Gerald and Tilak,1993) พบว่าสับปะรดเป็นผลไม้ที่เหมาะสมที่สุดในการหมักไวน์เนื่องจากในสับปะรดอุดมไปด้วยสารอาหารที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของยีสต์ที่หมักไวน์ (ปราโมทย์ ธรรมรัตน์, 2532) และสับปะรดเป็นผลไม้ที่มีการผลิตออกสู่ท้องตลาดทั้งปีจึงลดปัญหาในเรื่องวัตถุดิบในการหมักไวน์ไม่เพียงพอและมีราคาแพงได้ (พัฒนาผลิตภัณฑ์,

2543)

ในการผลิตไวน์ให้มีคุณภาพดี โดยไวน์มีรสชาติดีเยี่ยมนั้น กรรมวิธีการหมักตั้งแต่การคัดเลือกวัตถุดิบ การบ่ม การบรรจุขวดและการเก็บรักษามีความสำคัญต่อคุณภาพไวน์ (ปราโมทย์, 2532; ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2530; ช่อผกา แก้วใหญ่ และคณะ, 2542; Amerine *et al*., 1980a; Zoeckein, 1995) และในการหมักไวน์เชิงอุตสาหกรรมสิ่งที่สำคัญคือการหมักไวน์ให้กลิ่นรสที่ดี (Plank and Zent, 1993; Lao *et al*., 1996) จึงมีการเติมและปรับปรุงกลิ่นรสในไวน์ก่อนออกจำหน่ายด้วยสารแต่งกลิ่นรสต่างๆ ซึ่งในปัจจุบันอุตสาหกรรมน้ำผลไม้และไวน์นิยมใช้เอนไซม์เพคติเนส เอนไซม์เพคตินสช่วยในการสกัดน้ำผลไม้ สี กลิ่นรส และช่วยลดแรงหนืดระหว่างกระบวนการลง (Plank and Zent, 1993; Cruess *et al*., 1955; Demir *et al*., 2001; Loa *et al*., 1996) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์และการเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบได้อย่างคุ้มค่าที่สุด ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้เพื่อศึกษาการปรับปรุงคุณภาพกลิ่นรสของไวน์สับปะรด โดยศึกษาสายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมในการหมักไวน์ พันธุ์สับปะรดระหว่างสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและภูเก็ต อัตราการเจือจางที่เหมาะสม และการเพิ่มการสกัดน้ำและกลิ่นรสของสับปะรดด้วยการใช้เอนไซม์เพคติเนส เพื่อเป็นแนวทางให้ผู้ผลิตไวน์ทราบรายละเอียดต่างๆเกี่ยวกับสายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสม ระดับการเจือจางน้ำสับปะรด และปริมาณเอนไซม์เพคติเนสในการหมักไวน์สับปะรด

ตรวจเอกสาร

1. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสับปะรด

สับปะรด (*Ananas comosus (L) Merr.*) เป็นพืชในวงศ์ Bromeliaceae แหล่งกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกาใต้ บริเวณลุ่มแม่น้ำอเมซอนระหว่างตอนใต้ของเวเนซูเอลา ตอนเหนือของบราซิล บริเวณตะวันออกเฉียงใต้ของบราซิล ปารากวัยและตอนเหนือของอาร์เจนตินา พืชในวงศ์ Bromeliaceae จำนวนประมาณ 1400 ชนิด มีเพียงสับปะรดชนิดเดียวที่สามารถใช้เป็นอาหารได้

ทางพฤษศาสตร์จำแนกสับปะรดดังนี้ (ก่องกานดา ชยามฤต, 2541)

Kingdom	Plant
Sub-kingdom	Spermatophyta
Class	Angiospermae
Sub-class	Monocotyledonae
Order	Commelinales
Family	Bromeliaceae
Genera	*Ananas* และ *Pseudananas*

พืชในสกุล *Ananas* มีลักษณะสำคัญที่แตกต่างจาก *Pseudananas* คือ กลีบดอกแต่ละกลีบมีเกล็ด 2 อัน ผลเมื่อเจริญเต็มที่จะมีแบร็กต์ยาว รูปร่างคล้ายใบอยู่บริเวณโคนผลเห็นได้ชัดเจน (จินดารัฐ วีระวุฒิ, 2541)

1.1. ชนิดของสับปะรด (จารุพันธ์ ทองแถม, 2526; วิจิตต์ วรรณชิต, 2529)

สับปะรดที่ปลูกเป็นการค้าทั่วโลกจะมีอยู่ 5 กลุ่มคือ

1) สับปะรดในกลุ่มไคยีน (Cayenne) เป็นสับปะรดที่นิยมบริโภคสดและบรรจุกระป๋อง สับปะรดกลุ่มนี้อาจแบ่งได้ตามท้องถิ่นที่ผลิตเป็นการค้าเช่น พันธุ์ปัตตาเวีย พันธุ์นางแลหรือพันธุ์น้ำผึ้งซึ่งปลูกที่จังหวัดเชียงราย
2) สับปะรดในกลุ่มควีน (Queen) ผลค่อนข้างเล็กประมาณ 0.7 กิโลกรัม แต่มีเนื้อหวานเนื้อละเอียด สับปะรดในกลุ่มนี้ได้แก่พันธุ์ภูเก็ตหรือสิงคโปร์ สับปะรดชนิดนี้นิยมปลูกเพื่อรับประทานสด สับปะรดพันธุ์ภูเก็ตในประเทศไทยมีเยื่อน้อย กรอบ สีจัด รสหวานแหลม กลิ่นหอมแรง แต่มีข้อเสียที่ตาลึก เปลือกหนา และมีหนามที่ขอบใบมาก
3) สับปะรดในกลุ่มสเปนิช (Spanish) ส่วนใหญ่ปลูกกันในแถบทะเลคาริบเบียนและ

เม็กซิโก พบว่าคุณภาพไม่ค่อยดีเนื่องจากเยื่อใยสูง และรสชาติไม่เป็นที่นิยมของตลาด ในประเทศไทยคือ พันธุ์อินทรชิตและพันธุ์ขาว

4) สับปะรดในกลุ่มอะบาคาซิส (Abacaxis) หรือเพอนามบูโก (Pernambuco) ปลูกกันมากในแถบบราซิล รูปร่างผลเป็นทรงกระบอก เนื้อในผลสีขาวถึงเหลืองอ่อน ฉ่ำน้ำและนุ่มนวลแต่เปอร์เซ็นต์กรดต่ำกว่ากลุ่ม Cayenne แต่รสชาติดี ผลมีแกนเล็กคล้ายพันธุ์ควีนที่ปลูกในแอฟริกาใต้

1.2. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตและปัตตาเวีย

ในประเทศไทยนั้นมีการปลูกสับปะรดอยู่หลายพันธุ์ แต่ผลไม้เศรษฐกิจที่ปลูกและมีชื่อเสียงทางภาคใต้คือ สับปะรด (*Ananas comosus (L) Merr.*) โดยเฉพาะสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตและพันธุ์ปัตตาเวีย

สับปะรดภูเก็ตหรือพันธุ์สวี เป็นสับปะรดที่อยู่ในกลุ่มควีน มักปลูกเพื่อนำผลใช้บริโภคสดเท่านั้นไม่มีการนำไปแปรรูปเป็นสับปะรดบรรจุกระป๋อง (วิจิตต์ วรรณชิต, 2529) ใบของสับปะรดพันธุ์นี้แคบและยาวกว่าพันธุ์ขาวและพันธุ์อินทรชิต มีใบสีเขียวอ่อนและมีแถบสีแดงในตอนกลางของใบ ขอบใบเต็มไปด้วยหนามสีแดง ผลมีขนาดเล็กกว่าทุกพันธุ์ ตาลึก เนื้อสีเหลืองรสหวานกรอบ มีกลิ่นหอม สับปะรดพันธุ์นี้ปลูกมากในท้องที่จังหวัดภูเก็ตและจังหวัดชุมพร (จารุพันธ์ ทองแถม, 2526)

สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย เป็นสับปะรดในกลุ่มไคยีน เป็นสับปะรดที่ไม่มีหนาม ปลูกอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศไทยแต่ละแหล่งจะมีชื่อเรียกแตกต่างกัน เช่น สับปะรดศรีราชา สับปะรดตาดำหรือสับปะรดปราณบุรี เป็นต้น ลักษณะใบเรียบแต่จะมีหนามเล็กน้อยที่โคนและปลายใบ ผลมีขนาดใหญ่ น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 2.5 กิโลกรัม รูปร่างแตกต่างกันหลายแบบเช่น คล้ายรูปกรวย รูปทรงกระบอก รูปกลมขึ้นอยู่กับการเลือกใช้วัสดุปลูกและสภาพในการเจริญเติบโตของต้น แหล่งปลูกสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียเพื่ออุตสาหกรรมจึงปลูกกันมากในภาคกลาง แหล่งปลูกที่ใหญ่ที่สุดคือจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ซึ่งผลิตสับปะรดได้มากกว่าครึ่งของสับปะรดที่ผลิตได้ในประเทศไทย รองลงมาคือจังหวัดเพชรบุรี ภาคตะวันออกปลูกมากที่จังหวัดชลบุรี ระยอง ภาคเหนือปลูกมาที่จังหวัดลำปาง ส่วนภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ปลูกน้อยเช่น พัทลุง และชุมพร (วิจิตต์ วรรณชิต, 2529; ธงชัย มาลา และคณะ, 2542)

1.3. องค์ประกอบทางเคมีของสับปะรด

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสับปะรด (*Ananas comosus (L) Merr.*) พบ

ว่า องค์ประกอบส่วนใหญ่ประกอบด้วยน้ำ เส้นใย น้ำตาลเป็นส่วนใหญ่ได้แก่ กลูโคส ฟรุตโตส และซูโครส และมีวิตามินซีประกอบเป็นส่วนใหญ่ (ตารางที่ 1) (Jayaraman *et al*., 1975; Morgan, 1966; Wills *et al*., 1986; Simpson *et al*., 1984; Gerald and Tilak, 1993)

2. ไวน์

ไวน์เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ซึ่งเกิดจากการหมักน้ำคั้นจากองุ่นด้วยยีสต์ โดยควบคุมกระบวนการหมักอย่างเหมาะสม ไวน์ที่เกิดจากการหมักผลไม้ชนิดอื่นเรียกว่าไวน์ผลไม้ นอกจากนี้ไวน์สามารถหมักได้จากผัก ใบไม้ และดอกไม้ด้วย ผลไม้แต่ละชนิดมีกลิ่นและรสแตกต่างกัน ซึ่งส่งผลทำให้ไวน์ที่หมักได้มีความแตกต่างกัน ไวน์ผลไม้ได้แก่ ไวน์สตรอเบอรี่ (ไพโรจน์ วิริยจารี และจันทร์หอม สมสงวน, 2535) ไวน์กระเจี๊ยบ (ประดิษฐ์ ครุวัณณา และคณะ, 2530) ไวน์แตงโม (Khattak *et al*., 1965) ไวน์น้ำมะพร้าว (อรนุช เผ่าจินดา และ ศุภลักษณ์ พณิชย์เสรีวงษ์, 2542) ไวน์สับปะรด (เชิดชัย เชี่ยวธีรกุล และคณะ, 2519; Ayogu, 1999; Maldonado *et al*., 1975) เป็นต้น

ไวน์ประกอบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ และแอลกอฮอล์อื่นๆอีกหลายชนิด น้ำตาล คาร์โบไฮเดรต โพลีฟีนอล อัลดีไฮด์ คีโตน เอนไซม์บางชนิด เม็ดสี วิตามินอย่างน้อย 6 ชนิด แร่ธาตุต่างๆอีก 15-20 ชนิด และกรดอินทรีย์มากกว่า 22 ชนิด รวมทั้งสารอื่นๆที่ยังไม่ได้วิเคราะห์อีกเป็นจำนวนมาก สารทั้งหมดที่ผสมกันมีอัตราส่วนแตกต่างกันมาก ทำให้คุณภาพและรสชาติของไวน์แตกต่างกันไปด้วย (ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2520) โดยขบวนการหมักไวน์เป็นดังภาพที่ 1

2.1 การแบ่งชนิดของไวน์

2.1.1 **การแบ่งตามลักษณะสีที่ปรากฏ** แบ่งได้ 3 ชนิดคือ (สันติ วงศ์สุวรรณ, 2532; ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2520)

1) ไวน์แดง คือไวน์ที่หมักจากผลไม้ที่ให้สีแดง เช่นองุ่นแดง กระเจี๊ยบ ลูกหว้า
2) ไวน์ขาว คือไวน์ที่มีสีใสออกสีเหลืองหรือสีน้ำตาล หมักจากผลไม้เช่น องุ่นขาว มะยม ลิ้นจี่
3) ไวน์ชมพู คือ ไวน์ที่ได้จากไวน์แดงผสมกับไวน์ขาวหรืออาจเป็นไวน์สีแดงอ่อน ซึ่งแบ่งตามชนิดของวัตถุดิบเป็น 2 ชนิดคือ
   - ไวน์ดอกไม้ คือ ไวน์ที่หมักจากดอกไม้ เช่น ดอกกุหลาบ ดอกเข็ม
   - ไวน์สมุนไพร คือ ไวน์ที่เติมสมุนไพรหรือสารให้กลิ่นเช่น vermouth ของ

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของสับปะรด

Table 1 Chemical composition of pineapple

Composition	Volume	Volume
Yield %	50[a]	-
Moisture (%)	84.9[a]	86.0[b]
pH	3.5[a]	-
°Brix	11.5[a]	-
Acid		
citric	0.87%[a]	0.79[b]
malic	-	0.18[b]
Total soluble sugar (%)	4.8[a]	-
Total sugar (%)		
dextrose (glucose)	11.4[a]	1.4[b]
sucrose	10.8[a]	4.7[b]
fructose	-	1.9[b]
Ash (%)	-	0.5[b]
Fiber	-	2.1[b]
Pectin	0.15±0.07[C]	0.21[d]
Oil	0.1[e]	-
Cabohydrate	0[e]	-
Protein	1.0[e]	-
Calories (kg.J)	-	162[b]

Note : Total soluble sugar measured as dextrose (%)

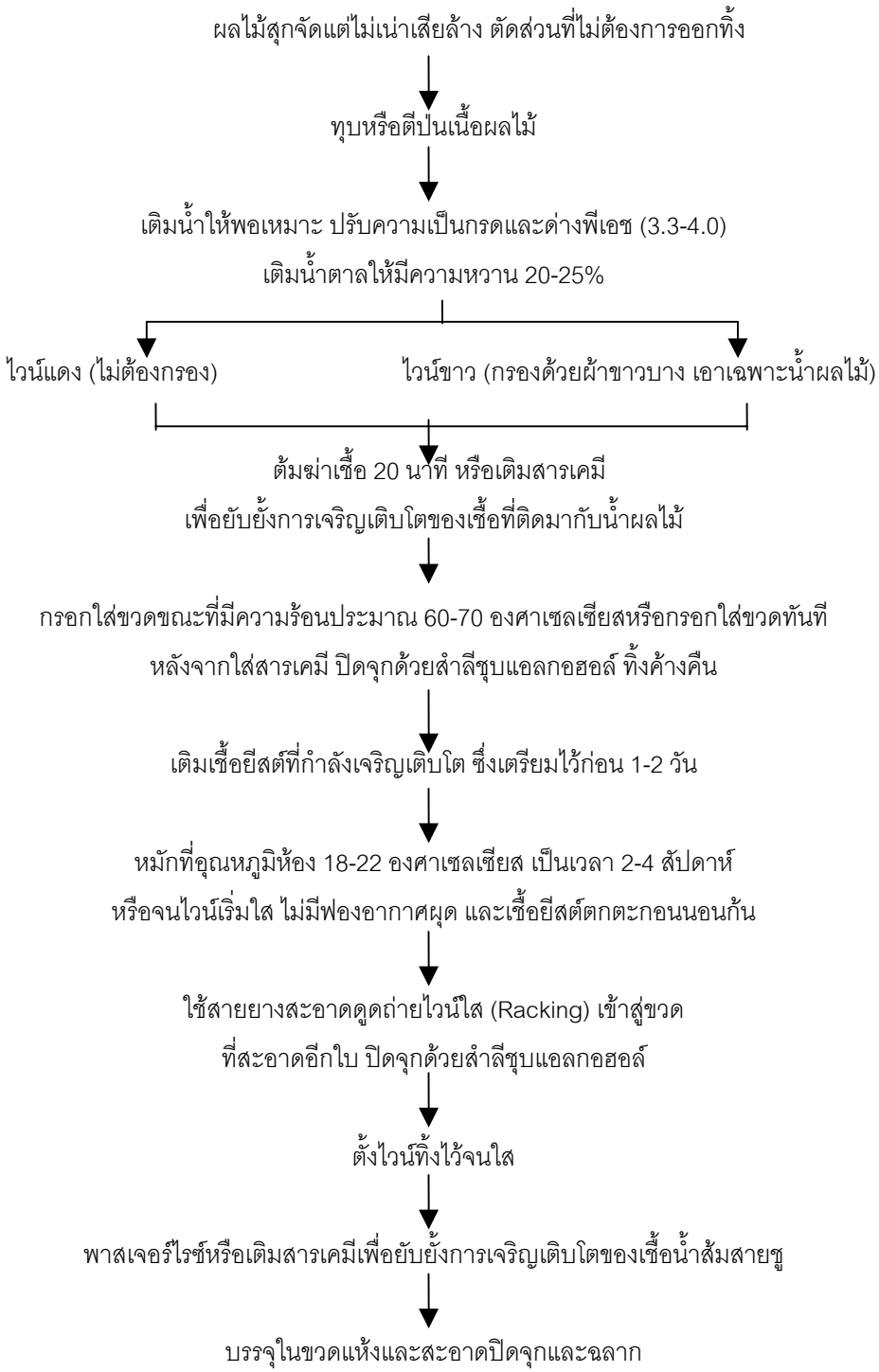
Source a =Jayaraman *et al*.,1975 and Morgan,1966 (%)

b = Will *et al*., 1986 (g/ 100 g)

c = Simpson *et al*., 1984 g of pectin/ g pineapple (*Ananas Comosus*)

d = Gerald and Tilak (1993)

e = Wills *et al*., 1986 (mg/ 100 g)



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการหมักไวน์

Figure 1 Wine fermentation method

Source : ประดิษฐ์ ครุวัณณา (2520)

อิตาลี

2.1.2 **การแบ่งชนิดตามปริมาณแอลกอฮอล์และน้ำตาล** แบ่งได้ 2 ชนิดคือ (สันติ วงศ์สุวรรณ, 2532; การเกษตรกรรมและอุตสาหกรรม, 2534)

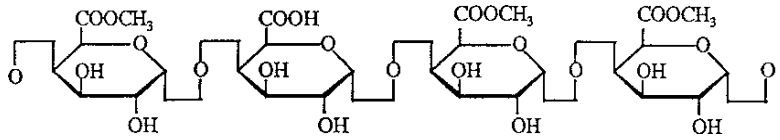
1) ไวน์หวาน (Sweet wine หรือ lady wine) มีแอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 7-10 โดยปริมาตรและมีความหวานค่อนข้างสูง จึงเหมาะกับสตรีมากกว่าไวน์ชนิดอื่นๆ
2) ไวน์ธรรมดา (Dry wine) มีแอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 10-14 โดยปริมาตร แต่มีปริมาณน้ำตาลน้อยมากจนถึงไม่มีเลย
3) ไวน์ชนิดแรง (Dessert and Appetizer wine) มีแอลกอฮอล์มากกกว่าร้อยละ 14 โดยปริมาตร เป็นไวน์ที่นิยมเสิร์ฟหลังอาหารพร้อมของหวาน
4) ไวน์ที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (Sparking wine) คือ ไวน์ที่ผ่านการหมัก2 ขั้นตอน โดยการหมักเช่นเดียวกับไวน์ปกติ ส่วนการหมักครั้งที่ 2 จะเป็นการอัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ลงไปในขวดเพื่อให้เกิดความซ่าเมื่อเปิดและรินไวน์ เช่น แชมเปญ ชาร์มัง เป็นต้น
5) ไวน์อื่นๆ เช่น ไวน์คูลเล่อร์ ซึ่งเป็นเครื่องดื่มที่มีการผสมระหว่างไวน์กับน้ำผลไม้ที่มีรสค่อนข้างเปรี้ยวเช่น น้ำสับปะรด น้ำแพสชั่นฟรุต เป็นต้น และเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือคาร์บอเนตเพื่อให้มีฟองและรสซ่า โดยมีระดับแอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 4-6 โดยปริมาตร

3. เอนไซม์เพคติเนส

3.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเพคติน

เพคติน (pectin)เป็นองค์ประกอบโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งจะอยู่ตรงตำแหน่ง middle lamella และตรง primary cell wall ในพืชชั้นสูง ซึ่งเป็นส่วนประกอบในการสร้างความแข็งแรงของพืช (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543) เพคตินเป็นสสารที่เกิดจากการต่อกันของกลุ่มโพลีแซคคาไรด์แตกต่างกันในระดับที่แตกต่างกัน โครงสร้างทางเคมีพื้นฐานของเพคตินอยู่ในรูปของ α-D-galacturonan หรือ α-D-galacturonoglycan โครงสร้างเส้นตรงของเพคตินเกิดจากการต่อกันของกรด 1,4-α-D-galactopyranosyluronic กลุ่มคาร์บอกซีของกรดกาแลคทูโรนิกประกอบด้วยบางส่วนของหมู่เมทิลที่เข้าเอสเทอริไฟล์ บางกรณีอาจต่อกับโซเดียม โพแทสเซียมหรือแอมโมเนียมไอออน และ

บางครั้งอาจถูกอะซิติเลท (acetylated) ที่ตำแหน่ง C_2 และ C_3 สายโซ่ตรงหลักจะต่อกับน้ำตาลแรมโนส (L-rhamnose) ที่ตำแหน่ง α-1,2 และ β-1,4 เป็นส่วนมาก และโซ่กิ่งต่อกับน้ำตาลอะลาบิโนส (arabinose) กาแลกโทส (galactose) และไซโลส (xylose) จนกลายเป็นกรดกาแลกทูโรนิก (Friedrich *et al*., 1994; Wong, 1995; Dinnella and Lanzarini, 1997; Alkorta *et al*., 1998) (ภาพที่ 2) โดยสารประกอบเพคตินและอนุพันธ์มีหลายชนิดขึ้นกับโครงสร้างโซ่หลักดังนี้ กรดเพคตินิก (pectinic acid) เป็นกลุ่มสารกาแลคทูโรแนนที่มีหมู่เมทิลเป็นองค์ประกอบจำนวนมาก ซึ่งเพคติเนท (pectinate) เป็นเกลือของกรดเพคตินิก กรดเพคติค (pectic acid) เป็นกลุ่มสารกาแลกทูโรแนนที่มีหมู่เมทิลอยู่น้อย ซึ่งเพคเตท (pectate) เป็นเกลือของกรดเพคติก และสารประกอบเพคติน (pectin) เกิดจากการรวมตัวของกรดเพคตินิกเป็นหลัก ซึ่งปกติจะอยู่ในผนังเซลล์ที่จับกับโครงสร้างโพลีแซคคาไรด์และโปรตีนเกิดเป็นสารโพโตเพคติน (protopectin) ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่ไม่ละลายน้ำ และเพคตินที่ละลายน้ำได้เกิดจากการสลายตัวจากความร้อนในสภาวะที่เป็นกรด (Plank and Zent , 1993; Wong, 1995; Blanco *et al*., 1999)



ภาพที่ 2 โครงสร้างของเพคติน (Polygalacturonic acid)

Figure 2 Detailed structure of a pectin (Polygalacturonic acid)

Source : Plank and Zent (1993)

3.2 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเอนไซม์เพคติเนส

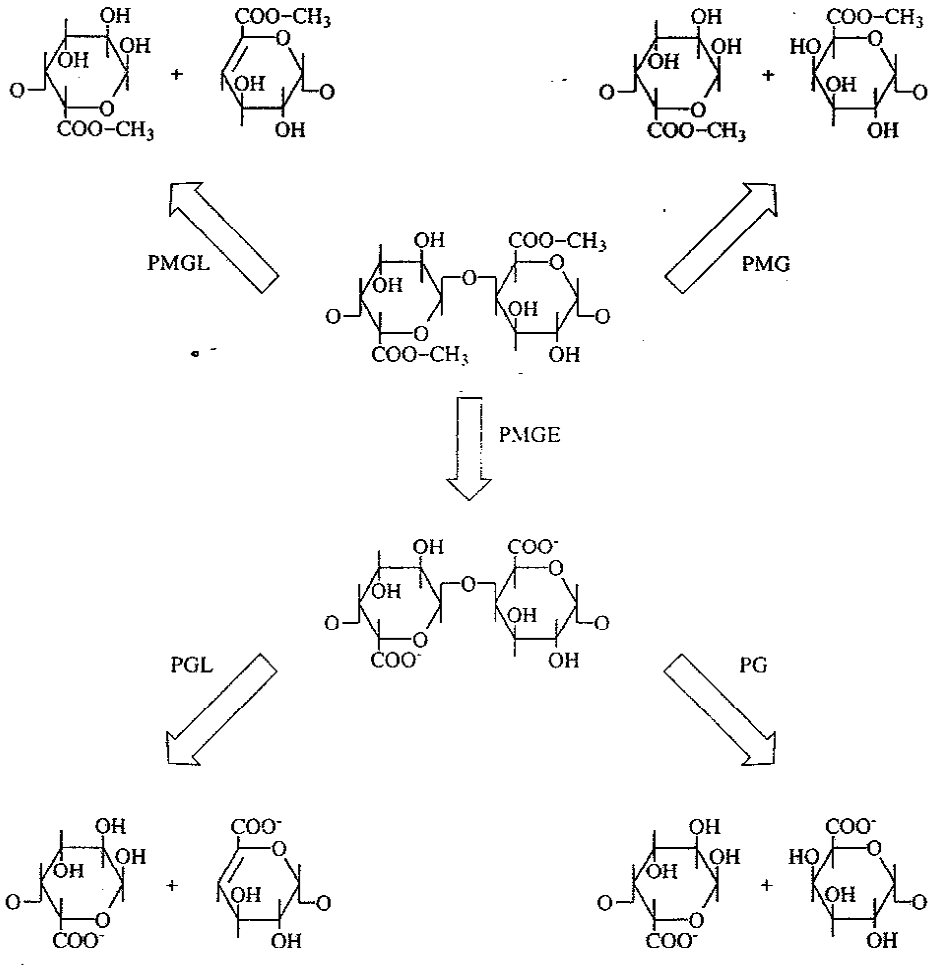
ปกติเพคติเนสพบในพืชชั้นสูงมักพบในผลไม้ เอนไซม์เพคติเนสจะทำงานเมื่อเซลล์พืชฉีกขาดหรือได้รับการกระทบกระเทือน โดยเอนไซม์ชนิดนี้ทำให้เกิดการย่อยสลายเพคติน เอนไซม์เพคติเนสในผลไม้มีปริมาณน้อยและมีปริมาณไม่แน่นอน ซึ่งอาจจะถูกทำลายได้ในระหว่างผ่านกระบวนการผลิต ดังนั้นในการทำให้น้ำผลไม้ใสหรือการหมักไวน์ จึงต้องเติมเอนไซม์เพคติเนสที่ขายทางการค้าลงไปด้วย (Friedrich *et al*., 1994; Lao *et al*., 1996) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์ที่สกัดจากจุลินทรีย์ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543)

เอนไซม์ย่อยสลายเพคตินรู้จักในชื่อของเพคติกเอนไซม์ (pectic enzyme) เพคติเนส (pectinase) เพคติโนไลติกเอนไซม์ (pectinolytic enzyme) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มเพคตินเมทิลเอสเทอเรส (pectinmethylesterase, EC 3.1.1.11, PME) ซึ่งเอสเทอริไฟล์สายเพคตินโดยแยกหมู่เมทอลซีออกเกิดเป็นเมทานอลและกลุ่มดีโพลีเมอเรส (depolymerase) ซึ่งจะแตกพันธะ

สายยาวของเพคตินให้สั้นลงโดยการย่อยสลายแบบสุ่ม กลุ่มดีโพลีเมอเรสประกอบด้วยเอนไซม์ 2 ชนิดและแบ่งออกตามลักษณะการย่อยสลายอีก 2 ชนิดย่อยคือแบบ endo หรือ exo จากการเข้าไปย่อยสายเพคตินหรือเพคเตท (ภาพที่ 3) (Lao *et al*., 1996; Blanco *et al*., 1999; Plank and Zent, 1993) คือ กลุ่มไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ที่ย่อยพันธะ α-(1,4) glycosidic ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อยได้แก่ โพลิกาแลคทูโรเนส (Polygalacturonase (PG), Poly-α-1,4-galacturonide glycanohydrolase, EC 3.2.4.15) ที่เข้าไปย่อยเพคเตท และโพลีเมทิลกาแลกทูโรเนส (Polymethylgalac turonases (PMG), EC 3.2.1.15) ซึ่งย่อยเพคติน ซึ่งแบ่งออกเป็น Exo-PG (EC 3.2.1.67) และ Endo-PG (EC 3.2.1.15) และกลุ่มที่ย่อยสลายแบบ β-elimination ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อยได้แก่ ไลเอส (เพคเทตไลเอส), EC 4.2.2.2, PL) ที่เข้าไปย่อยเพคเตท และเพคตินเมทิลไลเอส (Pectin methyl-lyase (PML), EC 4.2.2.10) ซึ่งย่อยเพคติน และแบ่งออกเป็น Exo-PL (EC 4.2.2.9) และ Endo-PL (EC 4.2.2.2) (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543; Plank and Zent, 1993; Lao *et al*., 1996; Alkorta *et al.,* 1998; Blanco *et al*., 1999)

การแยกความแตกต่างของเพคติเนสว่าเป็นชนิด exo หรือ endo สามารถดูได้จากความสัมพันธ์ระหว่างการลดความหนืด (viscosity) และการเกิดกลุ่มรีดิวซ์ (reducing groups)ของสารละลายเพคติน เมื่อความหนืดลดลง 50% แต่ bond แตกออกเพียง 2-3 % แสดงว่าการย่อยพันธะเป็นแบบสุ่ม (random) หรือ endo (Nasuno and Starr, 1968 อ้างโดย Sakai *et al*., 1993) แต่ถ้าเป็นการย่อยพันธะจากปลายเข้ามาหรือ exo (stepwise attack) ความหนืดจะลดลงอย่างช้าๆ (Macmillan *et al*., 1964 : อ้างโดย ปาริชาติ วัฒนา, 2519)

เอนไซม์เพคติเนสที่ขายทางการค้าส่วนใหญ่จะผลิตจากเชื้อ *Aspergillus* sp.(Friedrich *et al.,* 1994; Zoeklein *et al*., 1995; Lao *et al*., 1996) เนื่องจากเอนไซม์ที่ผลิตได้รับการยอมรับให้สามารถใช้กับอาหารได้ GRAS (generally recognised as safe) (Aguilar and huitron, 1986; Friedrich *et al.,* 1994; Zoeklein *et al*., 1995) และเตรียมขายในรูปของเอนไซม์ที่ผสมรวมเอนไซม์เพคติเนสหลักๆคือ เอนไซม์โพลิการแลคทูโรเนส เอนไซม์เพคตินเมทิลเอสเทอร์เรส เอนไซม์เพคตินเมทิลไลเอสหรือทรานเซลลิมิเนส (Transeliminase, PML) (Plank and Zent, 1993) และรวมเอนไซม์อีกหลายชนิดเข้าด้วยกันคือ เซลลูเลส (cellulase) เฮมิเซลลูเลส (hemicelluase) โปรตีเอส (protease) ออกซิเดส (oxidases) ซินนาโมไลเอสเทอเรส (cinnamolyesterase) เบต้าไกโคซิเดส (β-glycosidase) ฯลฯ (Lao *et al*.,1996; Amerine *et al*., 1980a) กิจกรรมของเอนไซม์จะขึ้นอยู่กับ pH อุณหภูมิ ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ และเวลาในการทำปฏิกิริยา (Plank and Zent, 1993) โดยเฉพาะ pH และอุณหภูมิจะเป็นปัจจัยหลักในการเตรียม



ภาพที่ 3 ปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์เพคติเนสชนิดต่างๆ

Fig 3. Enzymatic mode of action of the most frequent depolymeraseas on th pectin molecule. PMGL : polymethlgalacturonate layase (pectin lyase); PMG : polymethylgalacturonase (pectin hydrolase); PMGE : polymethylgalacturonate esterase (pectinesterase); PGL : polygacturonate lyase (pectate lyase); PG : polygalacturonase (pectate hydrolase)

Source: Alkorta *et al*., 1998

เอนไซม์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่นิยมใช้คือ 0.2-1.0 กรัมต่อลิตร โดยเอนไซม์เพคติเนสไม่ทำให้กลิ่นและรสของไวน์เปลี่ยนแปลงไป (ปราโมทย์, 2532)

Sreekantiah และคณะ (1968) ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดน้ำผลไม้โดยแปรอุณหภูมิที่ใช้บ่มตั้งแต่ 25 ถึง 50°ซ จากการทดลองพบว่าเอนไซม์เพคติเนส 0.5 %ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 40°ซ เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จะสามารถสกัดน้ำผลไม้ออกมาได้มากที่สุด

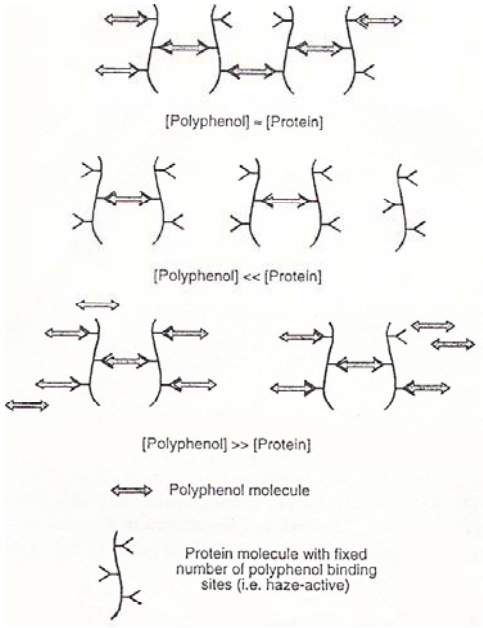
3.3 ประโยชน์ของเอนไซม์เพคติเนสในเชิงอุตสาหกรรม

3.3.1 การใช้เอนไซม์เพคติเนสเป็นสารทำให้ใส(fining agent)

ความขุ่นในน้ำผลไม้ส่วนใหญ่เกิดจากหลายปัจจัยเช่น เกิดจากสารคอลลอยด์ที่มาจากเนื้อเยื่อผลไม้ที่สกัด (ประมาณ 100-1000 มิลลิกรัม/ลิตร) โปรตีน (เกิดจากการจับกันระหว่างโปรตีนและโพลีฟีนอล (protein-polyphenol) (Siebert,1999) (ภาพที่ 4)) แทนนิน โลหะ (metallocolloid; เกิดจากการรวมตัวของเกลือที่ถูกออกซิไดซ์แล้วไม่ละลายน้ำ) องค์ประกอบโพลีแซคคาไรด์ (เพคติน (pectin) เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) แป้ง (starch)) (Saioglu *et al*.,2001) จุลินทรีย์ (ยีสต์และแบคทีเรีย) (ปราโมทย์ ธรรมรัตน์, 2532; Zoeckein ,1995; Alvarez *et al*., 1998) และเกิดจากการย่อยสลายสารประกอบพวกโพลีฟีนอล (Siebert, 1999)

สารทำให้ใสเป็นตัวช่วยจับสารหรือลดการปนเปื้อนของสารที่เราไม่ต้องการออกไป มักจะเติมในน้ำผลไม้และไวน์ เพื่อเพิ่มความใส สี กลิ่น รส และช่วยให้ไวน์คงสภาพ การทำงานของสารทำให้ไวน์ใสโดยอาศัยแรงทางประจุไฟฟ้า การเกิดพันธะหรือการดูดซับสาร ในกรณีของการทำงานโดยอาศัยแรงทางประจุไฟฟ้า อนุภาคที่มีประจุต่างขั้วกับสารทำให้ใสจะเข้ามาจับกันเรื่อยๆจนอนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้นจนมีน้ำหนักพอที่จะตกตะกอนลงมาได้ (Zoeckein, 1995) ในการทำให้ไวน์ใสทำได้โดยการเติมเอนไซม์หรือสารที่ทำให้ไวน์ใสเช่น เบนโทไนต์ (Bentonite) ซิลิกาเจล โพลีไวนิลโพลีไพโรลิดอน (polyvinylpolypyrrolidone (PVPP)) เป็นต้น (Siebert, 1999)

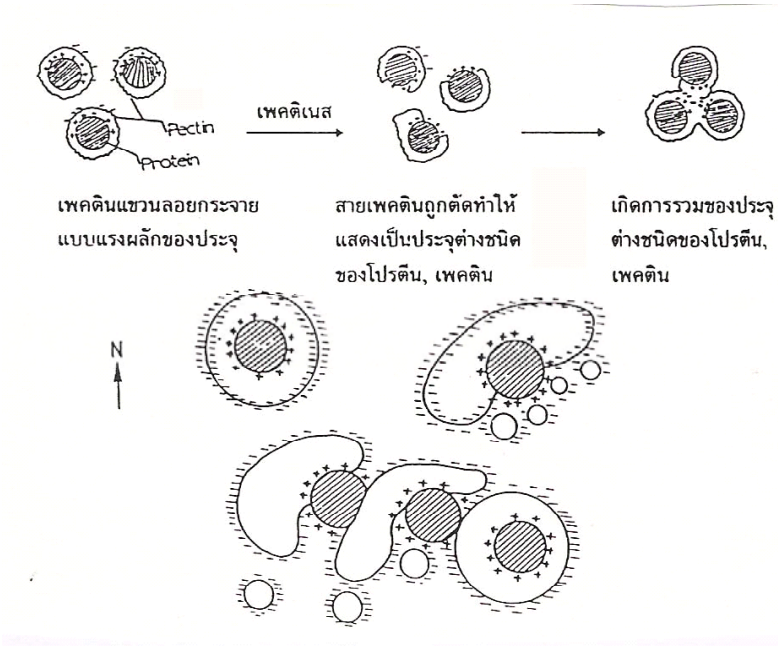
การทำให้ไวน์ใสโดยเอนไซม์เพคติเนสเป็นการกำจัดเพคติน โปรตีน และแป้งออกจากน้ำผลไม้ ซึ่งเพคตินและโปรตีนจับกันแขวนลอยกระจายแบบแรงผลักของประจุ โดยเอนไซม์เพคติเนสตัดสายเพคติน ทำให้ประจุของเพคตินและโปรตีนแสดงเป็นประจุต่างชนิดกัน ทำให้เกิดการรวมของประจุต่างชนิดของโปรตีนและเพคตินเกิดเป็นโมเลกุลใหญ่ขึ้นทำให้สามารถตกตะกอนได้ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543; Cruess *et al*., 1955; Plank and Zent, 1993; Mermelstein, 1998; Alvarez *et al*., 1998) (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 4 ความขุ่นที่เกิดจากการจับกันระหว่างโปรตีนกับโพลีฟีนอล

Figure 4 Turbidlity colloid happened from cross linked between protein and polyphenol

Source : Siebert (1999)



ภาพที่ 5 การย่อยสลายเพคตินเพื่อลดการรวมตัวเป็นคอลลอยด์ในน้ำผลไม้ในกรณีที่รวมกับโปรตีน

Figure 5 Pectin degradation to prevent colloid formation with protein in fruit juice

Source : ปราณี อ่านเปรื่อง (2543)

Brown และOugh (1981) ทำการทดลองเปรียบเทียบผลของเอนไซม์เพคติเนส 2 ชนิดคือ Clarex-L และ Spark-L-HPG ต่อการหมักไวน์องุ่น ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 100-8000 PGU/ton บ่มที่อุณหภูมิ 20°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดทำให้ความใสของไวน์เพิ่มขึ้น

Sreenath และSanthanam (1992) ทดลองสกัดน้ำองุ่นโดยใช้เอนไซม์เพคติเนส4 ชนิด คือ Pectinex ultra SP-L, Ultrazym 100G และ α-amylase โดยใช้เอนไซม์ 0.012-0.048% และบ่มที่อุณหภูมิ 20 ถึง 70°ซ เป็นเวลา 5-120 นาที พบว่าเอนไซม์ Pectinex 0.048% เหมาะสมในการสกัดน้ำองุ่นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ทำให้ลดความขุ่นได้ 98-99%

ปาริชาติ วัฒนา (2519) พบว่าเอนไซม์เพคตินทำให้ไวน์ใสมากขึ้น ในขณะที่ไวน์ซึ่งไม่ได้เติมเอนไซม์ยังมีความขุ่นอยู่คือ เมื่อเติมเอนไซม์ปริมาณ 0.6 กรัมต่อองุ่นหนึ่งกิโลกรัม ไวน์ที่ได้มีความใสใกล้เคียงกับการเติมเอนไซม์ 0.8 และ1.0 กรัมต่อองุ่นหนึ่งกิโลกรัม เมื่อเติมเอนไซม์ภายหลังการหมัก โดยใช้เอนไซม์ 0.2 กรัมต่อองุ่นหนึ่งกิโลกรัม ให้ความใสของไวน์ใกล้เคียงกับเมื่อเติมเอนไซม์ 0.4-1.0 กรัมต่อองุ่นหนึ่งกิโลกรัม และสีของไวน์จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 440 นาโนเมตรมีค่าแตกต่างกัน

3.3.2 การใช้เอนไซม์เพคติเนสในด้านเพิ่มผลผลิต

เอนไซม์เพคติเนสย่อยสลายเพคตินในน้ำผลไม้ทำให้น้ำผลไม้ใส ลดการใช้สารทำให้น้ำผลไม้หรือไวน์ใสแล้วยังช่วยลดขั้นตอนการกรองลง (Brown and Ough,1981; Zoecklein *et al*., 1995; Alvarez *et al*., 1998) เพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ที่ผ่านเข้าสู่เครื่องกรองมากขึ้น (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543) ลดแรงหนืดของน้ำผลไม้ในขั้นตอนสุดท้าย (downsteam process) (Cruess *et al*., 1955; Zoecklein *et al*., 1995; Lao *et al*.,1996; Demir *et al*., 2001) ช่วยลดฟองที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการหมักไวน์เชิงอุตสาหกรรม (Santamaria *et al*., 1999) และช่วยในการสกัดน้ำผลไม้ โดยทำให้ได้ปริมาณน้ำผลไม้เพิ่มขึ้นจาก 5% เป็น 15% (Sreekantiah *et al*.,1968; Sreekantiah *et al*.,1971; Viquez *et al*.,1981; Joshi *et al*.,1991) โดยช่วยในการสกัดน้ำผลไม้และช่วยลดการสูญเสียในขั้นตอนการกรองจาก 10% เป็น 30% (Plank and Zent, 1993) เอนไซม์เพคติเนสสกัดน้ำผลไม้จากเนื้อเยื่อผลไม้ ทำให้ได้ผลิตผลสูง ผลไม้ที่ใช้เอนไซม์ช่วยสกัดเช่น แอปเปิ้ล สตรอเบอรี่ ราสเบอรี่ กล้วย มะม่วง เป็นต้น (Plank and Zent, 1993; Demir *et al*., 2001) โดยเฉพาะผลไม้ในกลุ่มที่มีปริมาณเพคตินมากที่ทำการสกัดน้ำผลไม้ยากเช่น ขนุน มะละกอ องุ่น ละมุด ทุเรียน (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543) กล้วย (Viquez *et al*.,1981) ลูกพีช พลัม และแอปปริคอท (Joshi *et al* ., 1991)

Vos และPilnik (1973) ทดลองเติมเอนไซม์เพคติเนส 0-5% ในขั้นตอนการสกัดน้ำแอปเปิ้ลโดยเครื่องกด พบว่าเอนไซม์ช่วยทำให้ได้น้ำแอปเปิ้ลเพิ่มขึ้น 30-40%

ปาริชาติ วัฒนา (2519) พบว่าอัตราเร็วในการกรองเพิ่มขึ้นในไวน์ที่เติมเอนไซม์ก่อนและภายหลังการหมัก เช่นเดียวกับการทดลองของ Sreenath และคณะ (1992, 1994) ที่พบว่าน้ำสับปะรดและน้ำองุ่นที่เติมเอนไซม์เพคติเนสมีความหนืดลดลง จาก 4.0 เป็น 2.8 mpas และจาก 1.40 เป็น 1.05 centipoise ตามลำดับ

Sreenath และคณะ (1987) ทดลองศึกษาผลของเอนไซม์เพคติเนสและเซลลูเลสในการลดความหนืดของน้ำมะม่วง โดยใช้เอนไซม์หลายชนิด 0.05% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ 25-60°ซ เป็นเวลา 30 นาที พบว่ายิ่งเพิ่มอุณหภูมิ ความหนืดยิ่งลดลง โดยความหนืดจะลดลงมากที่สุดเมื่อบ่มเอนไซม์ที่ 40°ซ และเมื่อทดลองสกัดน้ำมะม่วงด้วยสภาวะที่เหมาะสมคือบ่มเอนไซม์ Ultrazym 100 ความเข้มข้น 0.05% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ 40°ซ เป็นเวลา 30 นาที สามารถที่จะคั้นน้ำมะม่วงได้ 24 กิโลกรัมจาก 30 กิโลกรัมมะม่วง และได้มีการทดลองตรึงเอนไซม์เพคติเนสพบว่าสามารถลดความหนืดได้ถึง 70-90% (Dinnella *et al*., 1997)

Chenchin และคณะ (1984) ทดลองใช้เอนไซม์กลุ่มเพคติเนสช่วยในการสกัดน้ำสับปะรดโดยใช้เอนไซม์ 3 ชนิดคือ เพคติเนส (pectinase) (Kleerzyme HT) 300 ppm เซลลูเลส (cellulase) (Cellzyme 225) 225 ppm และเฮมิเซลลูเลส (hemicellulase) (Rhozyme HP-150) 50 ppm โดยบ่มที่ 50°ซ เป็นเวลา 10 นาที พบว่าเอนไซม์ทุกตัวสามารถที่จะลดความหนืดของสับปะรดลงได้ แต่เอนไซม์เพคติเนสสามารถลดความหนืดได้มากที่สุดถึง 77%

Brown และ Ough (1981) ทำการทดลองเปรียบเทียบผลของเอนไซม์เพคติเนส 2 ชนิดคือ Clarex-L และ Spark-L-HPG ต่อการหมักไวน์องุ่น ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 100-8000 PGU/ton บ่มที่อุณหภูมิ 20°ซ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดทำให้มีปริมาตรน้ำผลไม้เพิ่มขึ้น

Sreenath และคณะ (1994) ทำการทดลองใช้เอนไซม์เพคติเนสและเซลลูเลสในการปรับปรุงน้ำสับปะรด โดยใส่เอนไซม์ 0.025% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ 27-30°ซ เป็นเวลา 30 นาที พบว่าสับปะรดที่ใส่เอนไซม์และบ่มก่อนเข้าเครื่องกดมีปริมาตรน้ำผลไม้มากที่สุดคือ 81-86% ส่วนน้ำสับปะรดที่ผ่านเครื่องกดก่อนใส่เอนไซม์พบว่ามีการเพิ่มของน้ำผลไม้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น และสับปะรดที่ไม่ได้ใส่เอนไซม์แต่ผ่านเครื่องกดมีน้ำผลไม้ที่คั้นได้ 72%

ปาริชาติ วัฒนา (2519) ได้ทดลองนำเอนไซม์เพคติเนสที่สกัดได้จากแอสเพอร์จิลลัสไนเจอร์มาใช้ประโยชน์ในการหมักไวน์องุ่นเขียว ไวน์ที่ใช้ทดลองมีเพคติน 0.1955% ทำการทดลองใส่เอนไซม์เพคตินก่อนการหมักไวน์ในปริมาณ 0.6 กรัมต่อองุ่นหนึ่งกิโลกรัมและภายหลังการหมัก

ไวน์ จากการทดลองพบว่าเอนไซม์เพคตินช่วยทำให้ได้ไวน์เพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อใส่เอนไซม์ก่อนการหมักมากกว่าการใส่เอนไซม์ภายหลังการหมักคือ ทำให้ได้ไวน์เพิ่มขึ้น 7.007% และ 4.777% ตามลำดับ

3.3.3 การใช้เอนไซม์เพคติเนสในด้านการพัฒนาองค์ประกอบทางเคมีและกลิ่นรสของไวน์

เอนไซม์เพคติเนสช่วยเพิ่มคุณภาพของน้ำผลไม้ในด้านต่างๆเช่น การปรับปรุงสี (Cruess *et al*., 1955; Gump and Halght, 1995) การชะลอการเปลี่ยนแปลงสีของไวน์ การเพิ่มกลิ่นและรสของน้ำผลไม้ การปรับปรุงลักษณะสัมผัส (body) และการรับรู้รสชาติด้วยลิ้น (mouthfeel) ทำให้น้ำผลไม้ที่ใช้เอนไซม์ช่วยสกัดจะมีได้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสี และกลิ่นรสตามธรรมชาติ (Plank and Zent, 1993) สามารถลดระยะการบ่มไวน์ลงโดยไวน์ที่ใส่เอนไซม์มีคุณภาพดีในด้านความใสและกลิ่นรส (Yang and Wiegand, 1950; Cruess *et al*., 1955: อ้างโดย ปาริชาติ วัฒนา, 2519; Henning, 1956; Endo, 1961) และทำให้ไวน์มีองค์ประกอบทางเคมีเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะน้ำตาลรีดิวซ์ กรดกาแลกทูโรนิค กรดที่ไตเตรท (titrable acidity) และไวน์ที่เติมเอนไซม์เพคติเนสยังมีปริมาณเอสเทอร์ที่ระเหยได้ (volatile ester) มากกว่าเล็กน้อย (Demir *et al*.,2001)

Sreekantiah และคณะ (1971) พบว่าเมื่อใช้เอนไซม์ย่อยเพคตินกับน้ำผลไม้จะทำให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) และกรดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องมาจากเกิดการย่อยแป้งและมีการปล่อยหมู่คาร์บอกซิลออกมาตามลำดับ

Revilla และคณะ (2002) ทดลองหมักไวน์องุ่น โดยใช้เอนไซม์กลุ่มย่อยเพคตินชนิดต่างๆ คือ Pectinase WL Zimopec PX1 และ Rapidase พบว่าเอนไซม์ทุกตัวส่งผลทำให้ปริมาณฟีนอลิกอัลดีไฮด์ (phenolic aldehyde) กรดและกลิ่นรส flavan-3-ol monomer และโพลีเมอร์ (polymer) เพิ่มขึ้น เมื่อทดลองระยะเวลาเก็บบ่ม 6-12 เดือน เช่นเดียวกับ Viquez และคณะ (1981) พบว่าน้ำผลไม้ที่สกัดด้วยเอนไซม์จะมีกลิ่นและรสเพิ่มขึ้น

Versari และคณะ (1997) พบว่าการใช้เอนไซม์เพคติเนสในผลไม้ที่มีสีแดงจะทำให้สีจางลงได้เนื่องจากเอนไซม์ไปย่อยแอนโทไซยานิน (anthocycanin) ภายหลังที่ใส่เอนไซม์ 4-6 ชั่วโมง

William และคณะ (1978) พบว่าเอนไซม์เพคติเนสทำให้มีปริมาณของแอลกอฮอล์ชั้นสูง (higher alcohol หรือ fusel oil) มากขึ้น ทำให้มีสีเพิ่มขึ้นและมีปริมาณฟีนอล (phenol) เพิ่มขึ้น และเมื่อนำไปทดสอบชิมพบว่าไวน์ที่ไม่ใส่เอนไซม์ได้รับการยอมรับมากกว่า แต่ Liu และคณะ (1987) พบว่าไวน์เติมเอนไซม์เพคติเนสจะได้รับการยอมรับมากกว่าในด้านกลิ่นผลไม้และรสชาติ

แต่ไวน์ที่ไม่มีการเติมเอนไซม์มีกลิ่นผลไม้น้อยกว่า จากการทดสอบชิมพบว่าการเติมเอนไซม์เพคติเนสในการหมักไวน์ไม่ได้ทำให้คุณภาพของไวน์ด้อยลง

ปาริชาติ วัฒนา (2519) พบว่าเอนไซม์เพคติเนสทำให้ไวน์มีเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดเพิ่มขึ้น การเติมเอนไซม์ก่อนการหมักทำให้เปอร์เซนต์ความเป็นกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นน้อยกว่าการเติมเอนไซม์ภายหลังการหมัก แต่เมื่อสังเกตพบว่าไวน์ที่เติมเอนไซม์ก่อนการหมักมีสีจางกว่าไวน์ที่เติมเอนไซม์หลังการหมัก การเติมเอนไซม์ก่อนการหมักไม่มีผลต่อปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ที่ได้ แต่เมื่อเติมเอนไซม์ภายหลังการหมักทำให้ปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ลดลงเล็กน้อย เมื่อปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้นพบว่าปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น แต่การเติมเอนไซม์ก่อนการหมักทำให้ไวน์มีความคงตัวต่อความร้อนและความเย็นดีกว่าการเติมเอนไซม์ภายหลังการหมัก การเติมเอนไซม์ก่อนการหมักไม่มีผลต่อรสของไวน์ แต่ทำให้กลิ่นด้อยลงเล็กน้อย ส่วนการเติมเอนไซม์ภายหลังการหมักไม่มีผลต่อกลิ่นและรสของไวน์ แต่ Joshi และคณะ (1991) พบว่าน้ำลูกพีช พลัม และแอปปริคอทที่ใส่เอนไซม์เพคติเนสได้รับการยอมรับทางการทดสอบชิมในด้านสี และความใส แต่ไม่มีความแตกต่างในด้านกลิ่นและรสชาติของน้ำผลไม้

Lao และคณะ (1996) ศึกษาผลของเอนไซม์เพคติเนสที่ผลิตจาก *Aspergillus niger* ต่อองค์ประกอบของน้ำองุ่นและไวน์องุ่น ทำการทดสอบกับองุ่น 3 พันธุ์คือ Macebeo, Xarel.lo และ Parellada ทดลองนำเอนไซม์เพคติเนสมาย่อยองุ่นพบว่ามีปัจจัย 21 ตัวที่มีการเปลี่ยนแปลงไป เอนไซม์เพคติเนสจะมีผลต่อองค์ประกอบของน้ำองุ่นมากกว่าไวน์องุ่นในด้าน ความขุ่น กรดกาแลกทูโรนิก กรดทั้งหมด ฟีนอลที่ไม่ทำให้เกิดกลิ่น (nonflavonoid phenol) โปรตีน และเมทานอล แต่พบว่าหลังจากใช้เอนไซม์ย่อยเพคตินทำให้คอลลอยด์กลูโคซิดิก (glucosidic colloids) และโพลีแซคคาไรด์ลดลง อาจเนื่องจากเพคตินในน้ำองุ่นลดลง แต่การย่อยสลายเพคตินทำให้มีกรดกาแลคทูโรนิคเพิ่มขึ้น แต่ Joshi และคณะ (1991) พบว่าเอนไซม์ไม่ทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด กรดไม่มีการเปลี่ยนแปลงในการสกัดน้ำลูกพีช พลัม และแอปปริคอท เช่นเดียวกับการทดลองของ Sreenath และ Santhanam (1992) ที่พบว่าเอนไซม์ทำให้ไวน์มีปริมาณฟีนอลลดลง

ต่อมา Lao และคณะ (1997) ศึกษาผลของเอนไซม์เพคติเนสในเชิงคุณภาพต่อไวน์องุ่น 3 พันธุ์ที่หมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cervisiae* พบว่าไวน์ที่ใส่เอนไซม์ Citolase 446 มีปริมาณแอลกอฮอล์ กรดไฮดรอกซีซินนามิก และฟีนอลที่ระเหยได้เพิ่มขึ้น แต่เอสเทอร์ส่วนมาก แอลกอฮอล์ที่ทำให้เกิดกลิ่นสมุนไพร (herbaceous alcohol) และเอสเทอร์ของไฮดรอกซีซินนาเมท (hydroxycinnamate derivative ester) ลดลง พบว่าเทอร์พีน (terpenes) 2ฟีนิลเอทานอล (2-phenylethanol) และเบนซิลแอลกอฮอล์ (benzyl alcohol) ไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อนำมา

ทดสอบชิมพบว่า ไวน์ที่มีการใส่เอนไซม์จะได้รับการยอมรับมากกว่า แต่ Sreenath และคณะ (1994) พบว่าน้ำสับปะรดที่ใส่เอนไซม์เพคติเนสและไม่ใส่เอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันทางการทดสอบชิม

Brown และ Ough (1981) พบว่าไวน์ที่ใส่เอนไซม์มีเมทานอลเพิ่มขึ้น เมื่อนำมาทดสอบชิมพบว่าคุณภาพของไวน์เพิ่มขึ้นในด้านความใส แต่ Ough และ Berg (1974) อ้างโดยปาริชาติ วัฒนา (2519) พบว่าไวน์ที่เติมด้วยเอนไซม์เพคติเนสมีคุณภาพทางการทดสอบประสาทสัมผัสด้อยกว่าไวน์ที่ไม่ได้เติมเอนไซม์เล็กน้อย

4. ปัจจัยที่มีผลต่อกลิ่นรสในไวน์

สารที่ทำให้เกิดกลิ่นรสในไวน์เกิดขึ้นจากปัจจัยหลายๆอย่างเช่น ชนิดวัตถุดิบและสายพันธุ์วัตถุดิบที่ใช้ อัตราสุกของผลไม้ (Fraile *et al*., 2000) ชนิดของดิน เทคนิคในการหมักไวน์ สายพันธุ์ยีสต์ กระบวนการหมักไวน์และสภาวะการบ่มไวน์ กลิ่นรสของไวน์เกิดขึ้นจากสารที่ให้กลิ่นรสในไวน์หลายๆชนิด (Bell, 1989; Mauricio *et al.,* 1997; Ramos *et al*., 1999; Cortes *et al.,* 1998 ,1999 อ้างโดย Plata *et al*., 2003.)

สารที่ทำให้เกิดกลิ่นรสในไวน์มีปริมาณระหว่าง 0.8-1.2 กรัมต่อลิตร เอทานอลในไวน์มีปริมาณประมาณ 1% และแอลกอฮอล์ชั้นสูงมีปริมาณประมาณ 50% ซึ่งสารให้กลิ่นรสในไวน์มีความเข้มข้นระหว่าง 10^{-4} และ 10^{-9} กรัมต่อลิตร (Rapp *et al*., 1973; 1978 อ้างโดย Linsken and Jackson, 1988; Torrea *et al*., 2003) ซึ่งสารหลักที่ทำให้เกิดกลิ่นรสในไวน์คือ เอทานอล กลีเซอรอล แอลกอฮอล์ชั้นสูง และเอสเทอร์ตาม ลำดับ

แอลกอฮอล์ชั้นสูง ซึ่งเป็นกลุ่มสารที่มีปริมาณมากในไวน์ จึงเป็นสารที่มีความสำคัญต่อกลิ่นรสไวน์มาก โดยจะทำให้เกิดกลิ่นฉุนและกลิ่นเด่นในไวน์ ซึ่งมีปริมาณแตกต่างกันตามชนิดของไวน์ โดยปริมาณที่ทำให้ไวน์มีกลิ่นรสที่ดีจะต้องมีปริมาณไม่เกิน 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ถ้ามีปริมาณแอลกอฮอล์ชั้นสูงมากกว่านี้จะทำให้ไวน์เกิดกลิ่นรสที่ไม่ดีได้ (Mateo *et al*., 2001) กลุ่มแอลกอฮอล์ชั้นสูงที่สำคัญในไวน์คือ เอมิลแอลกอฮอล์ (amyl alcohol) และไอโซบิวทานอล (isobutanol) (longo *et al*., 1992)

เอสเทอร์ก็เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญต่อกลิ่นรสในไวน์ ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ดี เอสเทอร์เกิดจากการรวมตัวของกรดอะซิติก แอลกอฮอล์ชั้นสูง กรดไขมันอิ่มตัว และเอทานอล เอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) เป็นสารเอสเทอร์หลักที่ผลิตในระหว่างการหมักไวน์ ทำให้มีกลิ่นคล้ายผลไม้ ส่วนเอทานอลเอสเทอร์และเอซิลเอสเทอร์สายสั้น (small acyl chain esters) ทำให้เกิดกลิ่นผลไม้และ

กลิ่นดอกไม้ (Mateo *et al*., 2001) ขณะที่เอสเทอร์ที่มีเอซิลสายยาว (long acyl chain esters) ทำให้เกิดกลิ่นคล้ายสบู่ (Torrea *et al*., 2003) ส่วนเอทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (fatty acid ethyl esters) เช่น เอทิลเฮกซาโนเอท (ethyl hexanoate) ออกทาโนเอท (octanoate) ดีคาโนเอท (decanoate) และโดซีคาโนเอท (docecanoate) และเอสเทอร์ของแอลกอฮอล์ชั้นสูง (long chain higher alcohols acetates) เช่น ไอโซเอมิล (isoamyl) และ 2ฟีนิลอะซิเตท (2-phenethyl acetates) ถ้ามีปริมาณต่ำกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตรจะทำให้ไวน์มีกลิ่นน้อย (Mateo *et al*.,2001; Soufleros *et al*., 2001) ปริมาณเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) และไอโซเอมิลอะซิเตท (isoamyl acetate) ที่เกิดขึ้นในไวน์ขึ้นกับสายพันธุ์ของยีสต์ที่ใช้หมักและสภาวะที่ยีสต์เจริญเติบโต (Plata *et al*., 2003) ซึ่งเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) เป็นเอสเทอร์ที่สำคัญที่สุดในไวน์ โดยควรมีปริมาณ 150-200 มิลลิกรัมต่อลิตร ถ้ามีเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) มากจะทำให้เกิดกลิ่นที่ไม่ดี (Wagener and Wagener, 1967; Fraile *et al*., 2000; Plata *et al*., 2003)

อะซิตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) เป็นองค์ประกอบกลุ่มแอลดีไฮด์ (aldehyde) ที่สำคัญไวน์ควรมีปริมาณน้อยกว่า 59 มิลลิกรัมต่อลิตร ถ้ามีปริมาณมากกว่านี้จะทำให้เกิดกลิ่นรสไม่ดี (Kour koutas *et al*., 2003)

แอลกอฮอล์ที่สำคัญคือเอทานอล ซึ่งเป็นตัวสำคัญในการเกิดกลิ่นไวน์ พบว่าถ้าไวน์มีปริมาณเอทานอลต่ำจะทำให้ไวน์ที่หมักได้มีกลิ่นอ่อน (Zoechkein, 1995) เอทานอล เกิดจากการทำงานของเชื้อยีสต์ที่เปลี่ยนขบวนการหมักน้ำตาลให้กลายเป็นแอลกอฮอล์จากทฤษฎีของ Gay-Lussac ($C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH+2CO_2$) น้ำตาลถูกหมักแล้วจะให้ปริมาณเอทานอลประมาณ 51% โดยน้ำหนักของน้ำตาลคือ ในการหมักถ้ามีน้ำตาลเริ่มต้น 180 กรัม จะเปลี่ยนเป็นเอทานอล 92 กรัม (51%) และอีก 88 กรัมจะเป็นปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ แต่ตามความเป็นจริงปริมาณเอทานอลที่ได้จะมีปริมาณน้อยกว่าเมื่อหมักในสภาวะอากาศอุ่น เนื่องจากยีสต์จะสร้างผลผลิตพลอยได้ (by product) เช่น กลีเซอรอล (glycerol) กรดแลกติก กรดอะซิติก อะซิตอลดีไฮด์ เป็นต้น และพบว่าปริมาณแอลกอฮอล์จะขึ้นกับตัวผลไม้เองด้วย ถ้าผลไม้นั้นเป็นองุ่นหรือเบอร์รี่จะได้แอลกอฮอล์ต่ำต้องเติมน้ำตาลลงไปหมักเพิ่ม จึงจะได้ปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น (Fifield *et al*, 1974; Zoecklein, 1995) แอลกอฮอล์มีผลต่อการหมักไวน์โดยเฉพาะความเข้มข้นของแอลกอฮอล์สูงจะมีผลยับยั้งการเจริญของยีสต์ แต่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของถังหมักด้วย พบว่าที่อุณหภูมิต่ำยีสต์สามารถทนแอลกอฮอล์ได้ดีกว่าที่อุณหภูมิสูง (Amerine *et al.,* 1980a; Kilian *et al.,* 1989; Toriga *et al*., 2003) Pamment และคณะ (1990) และ Nagodawithana และ Steinkraus (1976) พบว่าอัตราการมีชีวิตของเซลล์สัมพันธ์กับอัตราการสร้างเอทานอล ยิ่งเซลล์ยีสต์สร้างเอทา

นอลมากขึ้นในสภาวะการเจริญที่มีน้ำตาลอยู่สูง ยีสต์จะมีชีวิตรอดน้อยลง เนื่องจากในสภาวะที่มีน้ำตาลในอาหารสูง ยีสต์จะนำเอทานอลเข้าสู่เซลล์มากขึ้น และเอทานอลจะเพิ่มอัตราการไหลของโปรตอนเข้าในเซลล์ยีสต์ ทำให้ลดความสามารถในการขนส่งสารเข้าออกเยื่อเมมเบรน โดยทำให้เอนไซม์และเยื่อเมมเบรนเสียสภาพ (denature))ส่งผลต่อการขนส่งสารอาหารเข้าสู่เซลล์ยีสต์ ทำให้การเจริญเติบโตของเซลล์ยีสต์ถูกยับยั้ง (Kilian *et al*., 1989; Garbutt, 1997) Novak และคณะ (1981) พบว่าเอทานอลที่ยีสต์สร้างขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักมีผลยับยั้งเซลล์ยีสต์ได้มากกว่าเอทานอลที่เติมลงไปในน้ำหมัก เนื่องจากเอทานอลในเซลล์ยีสต์มีความเข้มข้นมากกว่าเอทานอลที่เติมลงไป Mauricio และคณะ (1997) ที่พบว่าไวน์องุ่นที่หมักโดยเติมกรดไขมันที่มีพันธะคู่ โดยทดลองใส่เออร์โกสเตรอล (ergosterol) และกรดโอเลอิก (oleic acid) ทำให้ยีสต์ทนต่อสภาวะกดดันได้มากขึ้น ช่วยทำให้ยีสต์ขับเอทานอลออกนอกเซลล์ ทำให้ปริมาณเอทานอลที่เป็นพิษลดลง ยีสต์จึงสามารถผลิตแอลกอฮอล์ และสารที่ให้กลิ่นรสมากกว่าไวน์ที่ไม่ได้เติม

ในการผลิตไวน์ให้ได้คุณภาพดีจะต้องพิจารณาถึงปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการหมักไวน์ ปัจจัยสำคัญที่จะมีผลต่อการหมักไวน์แบ่งออกได้ 3 กลุ่มใหญ่คือ

4.1 **จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อการหมักไวน์**

การหมักไวน์ที่ผลิตในสมัยก่อนเป็นการหมักโดยใช้เชื้อที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ โดยการหมักจะเกิดขึ้นจากการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์หลายๆกลุ่มที่ติดมากับผลไม้ แบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มคือ เชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย ซึ่งสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันทำให้มีกลิ่นรสแตกต่างกันไป ทั้งไม่สามารถควบคุมกระบวนการผลิตได้ (ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2520)

4.1.1 **ความสำคัญของเชื้อราและแบคทีเรียในไวน์**

ในระหว่างการหมักไวน์พบว่า สภาวะการหมักไวน์แบบไม่มีอากาศและมีเอทานอลจะช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (Zoeckein ,1995) ส่วนแบคทีเรียที่เกิดขึ้นมักจะเป็นแบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติกหรือกรดแลคติก ซึ่งสามารถออกซิไดซ์เอทานอลในไวน์เป็นกรดอะซิติกที่ pH 4.5 ซึ่งทำให้ไวน์เสียกลายเป็นน้ำส้มสายชู แบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกรดอะซิติกที่มักพบในไวน์เช่น *Acetobacter aceti*, *A. pasterianus* และ *A. peroxydans* ส่วนแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกรดแลคติกมักจะเป็นพวก *Lactobacillus, Leuconostoc* และ *Pediococus* (Amerine *et al*., 1980a; Zoeckein, 1995; Fraile *et al*., 2000)

4.1.2 **ความสำคัญของยีสต์ในไวน์**

ยีสต์ส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องอาศัยอินทรีย์สารเพื่อการเจริญและเป็นแหล่งพลังงาน พบทั่วไปในธรรมชาติ (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2536) ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นแหล่งที่มีน้ำตาลสูง เช่นในน้ำผลไม้ ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญที่สุดในการหมักไวน์ โดยในช่วงแรกของการหมักไวน์ (1-2 วัน) พบว่าจะมียีสต์ในกลุ่มที่มีกิจกรรมต่ำ (*Picchia, Candida, Hansenula, Kluyveromyces*) หลังจากนั้นเชื้อจะตายเนื่องจากความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้น ทำให้เชื้ออีกกลุ่มหนึ่งเกิดขึ้น *(Kloecker, Torulaspora*) และสุดท้ายเชื้อที่หมักไวน์จะเป็นยีสต์ในสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งจะทำให้กระบวนการหมักเป็นไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Amerine *et al*.,1980a; Zoeckein, 1995)

Deak และ Beuchat (1993) ทดลองแยกเชื้อยีสต์จากน้ำผลไม้ เช่น น้ำแอปเปิ้ล น้ำองุ่น น้ำเชอรี่ น้ำส้ม และน้ำสับปะรด หลังจากบ่ม 24 ชั่วโมงที่ 25°ซ สามารถแยกเชื้อยีสต์ได้ 154 ชนิด โดยยีสต์ส่วนใหญ่เป็น *S.cerevisiae* ร้อยละ 24.7 *Candida* ร้อยละ 22.1 และ *Zygosaccharomyces rouxii* ร้อยละ 14.3

Heard และ Fleet (1986) ใช้เชื้อที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติและ *S.cerevisiae* หมักไวน์ขาวและไวน์แดง พบว่า *S. cervisiae* เป็นเชื้อที่มีลักษณะเด่นทั้งในน้ำองุ่นและในไวน์องุ่นที่หมักโดยเชื้อที่เกิดเองตามธรรมชาติและไวน์ที่ใส่เชื้อเริ่มต้น ไวน์ที่หมักจากเชื้อที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติจะมียีสต์หลายสายพันธุ์เกิดขึ้นได้แก่ *Candida stellata*, *C. colliculosa* และ *C. pulcerrima*

4.1.2.1 **ยีสต์ที่ทำให้ไวน์เสีย**

ยีสต์ที่ทำให้ไวน์เสียส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม wild yeast มักจะปนเปื้อนจากผลไม้ในขั้นตอนการเตรียมการน้ำผลไม้ก่อนการหมัก สามารถป้องกันโดยใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หรือพาสเจอร์ไรซ์ก่อนการหมัก แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อยคือ

1) ยีสต์ที่สร้างฟิล์ม (film forming yeast)

ยีสต์กลุ่มนี้อยู่ในสายพันธุ์ของ *Saccharomyces* รวมทั้ง *Pichia Candida Hansenula* และ *Metschnikowia* ยีสต์ในกลุ่มนี้สามารถเจริญได้ในไวน์ สร้างกรดระเหยซึ่งทำให้เกิดกลิ่นและรสที่ไม่ต้องการ ทำให้ไวน์ขุ่นและเกิดฟิล์มสีขาวที่ผิว ยีสต์กลุ่มนี้ส่วนใหญ่ปนเปื้อนมาจากผลไม้ในขั้นตอนการเตรียมน้ำหมัก (Zoeckein, 1995)

2) ยีสต์ที่มีความสามารถหมัก (fermentative yeast)

ยีสต์ในกลุ่มนี้เป็นยีสต์ที่ไม่สร้างฟิลม์และมีความสามารถในการหมัก ทำให้ไวน์เกิดรสขม เกิดเมือกเหนียว กลิ่นรสไม่ดี และมีกรดระเหยสูง ปริมาณน้ำตาลในไวน์ลดลง เนื่องจากยีสต์ใน

กลุ่มนี้แย่งน้ำตาลในไวน์จากยีสต์ที่ต้องการให้เกิดการหมักและทำให้พีเอชลดลง ทำให้แอลกอฮอล์ต่ำ และบางสายพันธุ์สามารถยับยั้งการทำงานของ *Saccharomyces sp*. ได้ เช่น *Hanseniaspora uvarum* (Zoecklein, 1995)

4.1.2.2 กลุ่มยีสต์ที่ใช้ในการหมักไวน์(ภาพที่ 6)

การหมักไวน์เชิงอุตสาหกรรมนิยมใช้เชื้อ *Saccharomyces sp.* (Heard and Fleet., 1986; Ciani and Maccarelli, 1998; Plata *et al*., 2003; Shinohara *et al*.,1994 และ Iranzo *et al*., 2000.) เนื่องจากสามารถหมักไวน์ให้แอลกอฮอล์ได้สูงถึง 16% (Zoecklein, 1995) เซลล์มีรูปร่างกลมจนถึงรูปร่างรี เซลล์มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 8x7 ไมครอน ขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้าง multilateral budding และสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศด้วยการสร้าง ascospore (วราวุฒิ ครูส่ง, 2538; Amerine *et al*., 1980a; Zoecklein, 1995)

สายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมในการหมักไวน์ต้องมีคุณสมบัติดังนี้คือ เจริญเร็ว หมักน้ำตาลเป็นเอทิลแอลกอฮอล์ ทนความเป็นกรดในน้ำผลไม้ได้ ทนต่อความเข้มข้นของน้ำตาลได้สูง ทนต่อเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ได้ดี (มานพ อำรุง, 2529) ผลิตกรดระเหยได้น้อย หมักน้ำตาลได้ทั้งหมด เจริญที่อุณหภูมิสูงได้ ทนต่อแก๊สซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ผลิตซัลเฟอร์ไดออกไซด์ปริมาณน้อย ผลิตฟองน้อย สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อชนิดอื่นได้ (killer phenotype) ผลิตอะซิตอลดีไฮด์ต่ำ ผลิตกลีเซอรอลที่ดี และผลิตกลุ่มแอลกอฮอล์ชั้นสูงปริมาณน้อย (Regodon *et al*., 1997; Shinohara *et al*., 1994) และเป็นยีสต์ชนิดที่เจริญข้างล่างเรียกว่า bottom yeast ซึ่งจะทำให้ไวน์ใสเนื่องจากเชื้อตกตะกอนลงสู่ก้นขวดทำให้ถ่ายไวน์ได้ง่าย (มานพ อำรุง, 2529) ในการหมักไวน์ถ้ากล้าเชื้อยีสต์มีช่วง lag phase นานและใช้กล้าเชื้อปริมาณต่ำ (1-2%) ทำให้มีอัตราการเสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ (ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ และคณะ, 2525) Mateo และคณะ (2001) พบว่ายิ่งมีการใส่ปริมาณกล้าเชื้อยีสต์เริ่มต้นสูงจะทำให้ไวน์มีสารให้กลิ่นรสในกลุ่มแอลกอฮอล์ชั้นสูงมากขึ้น และทำให้น้ำตาลที่เหลือหลังจากการหมักน้อยลงด้วย ซึ่งทำให้ไวน์มีกลิ่นรสดี ในการหมักไวน์มักใช้หัวเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในจำนวนเชื้อเริ่มต้นที่ 10^6 ถึง 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จึงทำให้การหมักเกิดได้อย่างรวดเร็ว (Fleet, 1997)

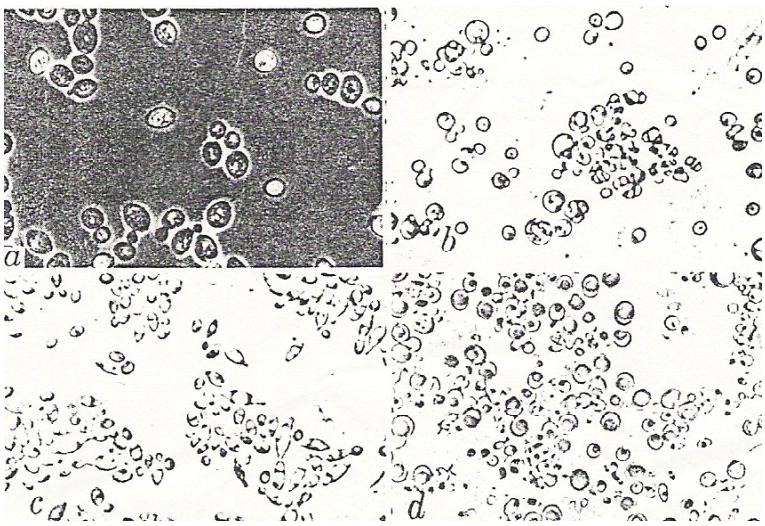
การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ ขั้นแรกต้องมีการวิเคราะห์หาสายพันธุ์ (species) บริสุทธ์ของยีสต์ที่เหมาะสมที่สุดในการหมักไวน์ (Amerine *et al*., 1980a) หลังจากนั้นนำสายพันธุ์ยีสต์ที่คัดเลือกนำไปวิเคราะห์ผลในห้องวิจัยซึ่งเป็นไปตามหลักการพื้นฐานของ oenological criteria คือ พิจารณาความแตกต่างของปริมาณการผลิตกลุ่มสารที่ให้กลิ่นรสและกรดอะมิโน โดยสายพันธุ์ที่

เหมาะสมจะต้องผลิตอะซิเตทในปริมาณมากและผลิตเอสเทอร์ของกรดไขมัน ซึ่งจะเป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นรสผลไม้ในไวน์มากกว่าสารที่ให้กลิ่นรสชนิดอื่น นอกจากนั้นต้องพิจารณาถึงความสามารถของสายพันธุ์ยีสต์ในการใช้แหล่งไนโตรเจนในน้ำองุ่นได้มาก ทำให้หมักไวน์ไม่หยุดชะงักและการหมักเกิดในความเร็วที่พอเหมาะ และพิจารณาปริมาณกรดอะมิโนที่ผลิตจากยีสต์ในไวน์ เนื่องจากกรดอะมิโนบางชนิดเป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารให้กลิ่นรสชนิดอื่นเช่น แอลกอฮอล์ชั้นสูง (Briones *et al*., 1995 อ้างโดย Coello *et al*., 1999)

Regodon และคณะ (1997) พบว่าสายพันธุ์ยีสต์ที่คัดเลือก สามารถหมักไวน์แล้วได้รับการยอมรับทางการทดสอบชิมมากกว่าไวน์ที่หมักจากเชื้อธรรมชาติ

Ciani และMaccarelli (1998) รายงานว่าไวน์ที่หมักจากเชื้อยีสต์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติจะผลิตกรดอะซิติก อะซิโตอิน (acetoin) และเอทิลอะซิเตท มากทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ดี

Fraile และคณะ (2000) พบว่าไวน์ที่หมักจากเชื้อยีสต์ธรรมชาติ มีปริมาณแอลกอฮอล์ชั้นสูงคือ โพรพานอล (n-propanol) ไอโซบิวทานอล (isobutanol) ไอโซเอมิลแอลกอออล์ (isoamyl alcohols) เฮกซานอล (n-hexanol) 2ฟีนิลเอทานอล (2-phenylethanol) ไทโรซอล (tyrosol) และทริปโตฟอล (tryptofol) มากกว่าไวน์ที่หมักจากยีสต์บริสุทธิ์ และทำให้ไวน์มีเกิดกลิ่นรสที่ไม่ดี



Note a = Saccharomyces b = Hensenula

c = Kloekera d= Candida

ภาพที่ 6 รูปร่างของยีสต์ที่ใช้ในการหมักไวน์

Figure 6 Characteristics of fermentation yeast.

Source: Amerine และคณะ (1980a)

4.1.2.3 ความสำคัญของสายพันธุ์ยีสต์ต่อการหมักไวน์

เชิดชัย เชี่ยวธีรกุล และคณะ (2519) ทดลองหมักไวน์สับปะรดด้วยยีสต์หลายสายพันธุ์ได้แก่ C150, C173, 70-50 และ C177 หมักที่อุณหภูมิ 20-26°ซ โดยปรับความหวานเริ่มต้นเป็น 24°Brix และ pH 4.0 พบว่าที่ยีสต์พันธุ์ 70-50 จะมีคุณภาพดีที่สุด โดยหมักไวน์ให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูง ไม่ทำให้ไวน์ขุ่น มีกลิ่นหอม และรสชาติกลมกล่อม

Ayogu (1999) ทดลองแยกเชื้อ *S.cerevisiae* จากผลของ Nigerian palm (*Elaeis guineensis*) เพื่อนำมาใช้ในการหมักไวน์สับปะรด เมื่อเปรียบเทียบผลการหมักไวน์กับเชื้อ *S.cerevisiae* ที่ขายทางการค้า พบว่าไวน์ที่ผลิตจากเชื้อที่แยกได้จากผลปาล์มจะมีปริมาณแอลกอฮอล์สูง 10.2% และยีสต์ที่ขายทางการค้าหมักไวน์ให้แอลกอฮอล์ 7.4%

ไพโรจน์ วิริยจารี และจันทร์หอม สมสงวน (2535) ทดลองหมักไวน์สตรอเบอรี่กับยีสต์สายพันธุ์ *S. ellipsoideus*, *S. burgandy* และ *S. sake* พบว่าไวน์ที่หมักจากยีสต์ทั้ง 3สายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติในด้าน pH ความเป็นกรด ปริมาณแอลกอฮอล์ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในไวน์และปริมาณแทนนิน แต่ไวน์ที่หมักจากเชื้อ *S. ellipsoideus* ได้รับความนิยมจากผู้ทำการทดสอบชิม เนื่องจากเป็นไวน์ที่มีลักษณะดีทั้งในด้านสี ความใส และรสชาติ

มนัญญา สมบูรณ์ทรัพย์ (2537) ทดลองหมักไวน์น้ำผึ้งจากดอกนุ่นด้วยเชื้อยีสต์ 3 สายพันธุ์คือ *S.cerevisiae* var. Montrache*t* (Mn), Pasteur Champagne (Ch) และ Epernay2 (Ep) การทดลองศึกษาเชื้อยีสต์ที่เหมาะสมในการหมักไวน์น้ำผึ้ง เมื่อนำไวน์มาทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ scoring test ในด้านการหมักและการประเมินผลทางประสาทสัมผัสพบว่า เชื้อยีสต์สายพันธุ์ Ch เป็นเชื้อยีสต์ที่มีคุณภาพดีกว่าเชื้อยีสต์สายพันธุ์ Mn และ Ep โดยเชื้อยีสต์สายพันธุ์ Ch สามารถสร้างกลีเซอรอลได้สูงสุด และสร้างกรดระเหยซึ่งเป็นสารที่มีกลิ่นแรงสูงสุด

สมบูรณ์ เตธัญญวรากูล (2536) ทดลองหมักไวน์น้ำผึ้งจากดอกสาบเสือ โดยคัดเลือกเชื้อยีสต์ *S.cerevisiae* ที่เหมาะสมในการหมักไวน์น้ำผึ้ง 3 สายพันธุ์เช่นเดียวกับมนัญญา โดยการทดลองที่ไม่เติมสารอาหารเป็นการทดลองควบคุม จากการทดลองให้ผลเช่นเดียวกับมนัญญาคือเชื้อยีสต์มีประสิทธิภาพในการหมักตามลำดับคือ Ch, Mn และ Ep

ประดิษฐ์ ครุวัณณา และคณะ (2521) ทดลองหมักไวน์จากองุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา ด้วยยีสต์ *S.cerevisiae* 6 สายพันธุ์ คือ KY 6 (Burgundy), KY 7 (Ellipsoideus), KY 10 (Montrachet), KY 18 (Champagne), C-146 (Champagne) และ C-117 (Bordeaux) หมักที่อุณหภูมิ 23°ซ ทดลองแบ่งน้ำองุ่นออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนหนึ่งเติมโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์และอีกส่วนหนึ่งนำไปพาสเจอร์ไรซ์ ทดลองโดยวิเคราะห์หาองค์ประกอบที่สำคัญทางเคมีของไวน์และประเมินผลการชิม พบว่าไวน์ที่ใส่โปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์มีรสดีที่สุดเมื่อหมักด้วยเชื้อยีสต์

KY 7 และ KY 10 ส่วนไวน์ที่หมักด้วยน้ำองุ่นที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์จะมีรสดีเมื่อหมักด้วยเชื้อ KY 18 และ C-117

ประดิษฐ์ ครุวัณณา และคณะ (2530) ทดลองเปรียบเทียบคุณภาพของไวน์องุ่นพันธุ์มะละกาและไวน์แดงที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อยีสต์ *S.cerevisiae* แห้งจากต่างประเทศ 9 เชื้อคือ จาก เยอรมันนี (หมายเลข 1) ฝรั่งเศส (หมายเลข 2) แคนาดา (หมายเลข 3-4และ 9) สหรัฐ-อเมริกา (หมายเลข 5-8) และเชื้อยีสต์มาตรฐาน 1 เชื้อ หมักที่อุณหภูมิ 20°ซ พบว่าในการหมักไวน์ขาวจากองุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา เชื้อยีสต์ทุกตัวหมักได้ดี เร็วและได้ไวน์ที่มีน้ำตาลเหลืออยู่น้อยกว่า 0.25 % เชื้อที่หมักได้เร็วที่สุดคือเชื้อยีสต์หมายเลข 10, 4 และ 9 โดยใช้เวลาหมัก 6-10 วัน

Gil และคณะ (1996) ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบการหมักไวน์ด้วยสายพันธุ์บริสุทธิ์ของ *Saccharomyces* spp. และสายพันธุ์ผสมระหว่าง *Saccharomyces* spp. และยีสต์ที่เกิดเองตามธรรมชาติ พบว่าการหมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces* spp. จะมีการหมักดีกว่ายีสต์ที่เกิดเองตามธรรมชาติ โดยให้ปริมาณแอลกอฮอล์และกรดสูงกว่า การหมักไวน์ด้วยยีสต์สายพันธุ์ผสมจะให้ปริมาณแอลกอฮอล์และกรดมากกว่าการหมักไวน์โดยใช้สายพันธุ์บริสุทธิ์

Venkataramu และคณะ (1977) ทดลองใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ ellipsoides หมายเลข 101, 374, 379 และ 801 จาก CFTRI หมักไวน์องุ่นมีน้ำตาล 16.5°Brix มีความเป็นกรด 0.75%กรดทาร์ทาริก พบว่าไวน์ที่หมักด้วยเชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันในด้านองค์ประกอบทางเคมี แต่พบว่าเชื้อยีสต์หมายเลข 374 จะสามารถผลิตเอสเทอร์และอัลดีไฮด์ได้มากที่สุดคือ 387.2 และ137 ppm ตามลำดับ ส่วนยีสต์หมายเลข 801 ผลิตกรดระเหยได้มากที่สุด 0.00156 % และยีสต์หมายเลข 379 สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้มากที่สุด ส่วนยีสต์หมายเลข 101 ผลิตสารต่างๆได้อย่างปานกลาง

4.1.2.4 **ความสำคัญของยีสต์ต่อการเกิดกลิ่นรสในไวน์**

การหมักไวน์โดยใช้เชื้อยีสต์สายพันธุ์แตกต่างกันมีผลทำให้องค์ประกอบกลิ่นรสที่เกิดขึ้นในไวน์มีปริมาณที่แตกต่างกัน (อะซิตอลดีไฮด์ เอทิลอะซิเตท เมทานอล โพรพานอล ไอโซบิวทานอล และไอโซเอมิลแอลกอฮอล์) ซึ่งส่งผลโดยตรงกับการทดสอบชิม (Longo *et al*., 1992; Iranzo *et al*., 2000) ปัจจุบันได้มีการนำวิธีการตัดต่อพันธุกรรมมาใช้คัดเลือกยีสต์ที่ใช้ในการหมักไวน์ โดยใส่ยีนหลักคือให้ยีสต์สร้างกลีเซอรอล กรดอินทรีย์และองค์ประกอบกลิ่นรส โดยจะต้องมีปริมาณกลุ่มแอลกอฮอล์ชั้นสูงและกลิ่นเอสเทอร์ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่สุดในไวน์ ซึ่งตัวที่ทำให้เกิด

ที่ดีคือ ไอโซเอมิลอะซิเตทและเอทิลคาโพเอท (ethyl caproate) ซึ่งจะทำให้เกิดกลิ่นผลไม้ (Shinohara *et al*., 1994)

Longo และคณะ (1992) ทดลองหาความสัมพันธ์ของสายพันธุ์ยีสต์*Saccharomyces* 14 สายพันธุ์ที่แยกได้จากบริเวณเดียวกันต่อการสร้างแอลกอฮอล์ เอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) อะซิตอลดีไฮด์ (acetaldehyde) และสารประกอบต่างๆในไวน์ พบว่าปริมาณโพรพานอล (n-propanol) ไม่แตกต่างกันมากนักใน 14 สายพันธุ์ มีปริมาณระหว่าง 20-29 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วน ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (isoamyl alcohols) และไอโซบิวทานอล (isobutanol) จะแตกต่างกันจาก 111-183 มิลลิกรัมต่อลิตร และจาก 31-51 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ความเข้มข้นของเอทิลอะซิเตทจะอยู่ในระหว่าง 19-44 มิลลิกรัมต่อลิตร และอะซิตอลดีไฮด์จะอยู่ระหว่าง 13-24 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องมาจากสายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ในการหมักไวน์มีความแตกต่างกันในด้านความสามารถในการใช้อาหารและผลิตสารออกมาต่างกันซึ่งมีผลต่อคุณภาพการหมักไวน์

Cabrera และคณะ (1988) ได้ทำการทดลองหมักไวน์องุ่นด้วยยีสต์ *S.cerevisiae* 4 สายพันธุ์และยีสต์ *Torulaspora delbrueckii* พบว่า *S.cerevisiae* หมักไวน์ได้แอลกอฮอล์ 14% (ปริมาตร/ปริมาตร) ส่วน *T. delbreuckii* ให้แอลกอฮอล์เพียง 12.5% (ปริมาตร/ปริมาตร) พบว่าสายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้หมักไม่มีความแตกต่างทางสถิติกันในด้านปริมาณกรด กรดระเหยทั้งหมดและการสร้างสารไอบิวทิลแอลกอฮอล์ ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ 1บิวทานอล 2ฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์ เอทิลอะซิเตท ไอโซเอมิลอะซิเตท 2ฟีนิลเอทิลอะซิเตท (2-phenylethyl acetate) กรดเอทิลเอสเทอร์ที่มี C_6, C_8 และ C_{10} เอทิลแลกเตท (ethyl lactate) เฮกซิลแลกเตท (hexyl lactate) และกลุ่มเทอร์พีน (terpene) และพบว่าสายพันธุ์ยีสต์ต่างกันไม่มีผลต่อการสร้างสาร 1โพรพานอล (1-propanol) เอมิลแอลกอฮอล์ (n-amyl alcohol) 1เฮกซานอล (1-hexanol) 1ออกทานอล (1-octanol) โพรพิลอะซิเตท (propyl acetate) ไอโซบิวทิวอะซิเตท (isobutyl acetate) และเฮกซิลอะซิเตท (hexyl acetate)

4.2 วัตถุดิบ

4.2.1 ผลไม้ที่นำมาหมักไวน์

ผลไม้ที่เหมาะสมในการทำไวน์ควรจะมีทั้งรสเปรี้ยว รสฝาด และรสหวาน หรือ ประกอบด้วยกรดอินทรีย์ในปริมาณที่พอเหมาะ มีสารพวกโพลีฟีนอล ได้แก่ แทนนิน และควรมีน้ำตาลในปริมาณเพียงพอด้วย (ปราโมทย์ ธรรมรัตน์, 2532) ผลไม้ที่เพาะปลูกในสภาพแวดล้อมต่างกันจะมีผลทำให้มีองค์ประกอบภายในผลไม้ที่แตกต่างกันและส่งผลต่อกลิ่นรสในไวน์ที่ผลิตได้ (Amerine *et al*, 1980a; Girard *et al*., 2001) ผลไม้ชนิดเดียวกันแต่ต่างพันธุ์ก็ส่งผลต่อคุณภาพการหมักไวน์

ประดิษฐ์ ครุวัณณา และคณะ (2537) พบว่าการหมักไวน์จากลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยจะเร็วกว่าการหมักไวน์จากลิ้นจี่พันธุ์ไทย เช่นเดียวกับการทดลองของ Suresh และ Negi (1974) พบว่าสายพันธุ์องุ่นมีผลต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของไวน์และส่งผลต่อการทดสอบชิม อัตราสุกของผลไม้เป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อคุณภาพไวน์ดังการทดลองของ Cabrera และคณะ (1988) พบว่าไวน์องุ่นที่หมักด้วยองุ่นสุกและองุ่นสุกปานกลางตามลำดับมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเหลือมาก ส่วนไวน์ที่หมักจากองุ่นดิบจะมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดน้อยกว่าซึ่งเป็นไปในทางเดียวกับปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ เช่นเดียวกับการทดลองของ Ramos และคณะ (1999) พบว่าสายพันธุ์ขององุ่นและระดับความสุกขององุ่นมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในองุ่น ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพของไวน์โดยตรง และพบว่าระดับการเจือจางของน้ำผลไม้มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของไวน์ดังการทดลองของนัยทัศน์ ภู่ศรัณย์ และไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก (2530) ทดลองหาอัตราส่วนการเจือจางน้ำคั้นจากผลมะม่วงหิมพานต์ 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 และ 1:10 พบว่าอัตราเร็วในการหมักจะแตกต่างกันจากเร็วไปช้าในตัวอย่างที่เจือจางตามลำดับ

ประดิษฐ์ ครุวัณณา และคณะ (2521) ทดลองหมักไวน์แดงจากกระเจี๊ยบแห้งและกระเจี๊ยบสด พบว่าแม้จะเติมแอมโมเนียมฟอสเฟตปริมาณ 0.03 % แต่เชื้อทุกตัวหมักกระเจี๊ยบแห้งได้ไม่ดี โดยใช้เวลาหมักมากกว่า 3 สัปดาห์ เชื้อยีสต์ที่หมักได้ดีคือหมายเลข 6, 4 และ 1 พบว่าเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ 0.33, 0.44 และ 0.33 % ตามลำดับ

Maldonado และคณะ (1975) ทดลองหมักไวน์สับปะรด โดยเตรียมน้ำผลไม้ที่คั้นได้ประมาณ 33 ลิตรต่อน้ำหนักผลไม้ 100 กิโลกรัม ที่มีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นประมาณ 12-14%น้ำหนัก นำมาปรับให้มีความหวาน 16°Brix ด้วยน้ำตาลอ้อย pH 4.5 เติมแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) 10 กรัมต่อลิตร โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) 5 กรัมต่อลิตร และแมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) 0.5 กรัมต่อลิตรแล้วนำไปฆ่าเชื้อที่ 70°ซ เป็นเวลา 10 นาที โดยใส่เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* var. ellipsoideus 10% หมักไวน์ที่อุณหภูมิ 30°ซ พบว่าการหมักไวน์สับปะรดสิ้นสุดที่เวลา 14 ชั่วโมง ปริมาตรผลผลิตที่ได้สูงสุดและต่ำสุดคือ 0.652 และ 0.452 ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้ต่อน้ำตาลที่ใช้ (%น้ำหนัก) และมีอัตราการเจริญของเชื้อสูงสุดและต่ำสุดคือ 0.26 และ 0.128 ต่อชั่วโมง

4.2.2 แหล่งไนโตรเจน

น้ำผลไม้ที่จะนำมาหมักไวน์ ต้องมีการปรับสภาวะให้เหมาะสมเพื่อให้ยีสต์สามารถเจริญเติบโตและสร้างสารให้กลิ่นรสที่ดี โดยจะมีการเติมสารเคมีต่างๆ เช่น ไวตามินและเกลือแร่

(ไวตามิน B_1 (Thiamine) ยีสต์สกัด (yeast extract) ทองแดง เหล็ก แมกนีเซียม โปตัสเซียม ฟอสฟอรัส และกำมะถัน) (ปราโมทย์ ธรรมรัตน์, 2532) pH 3.3-4.0 หรือกรดประมาณ 0.5-0.7% ของกรดทาร์ทาริก) (ปราโมทย์ ธรรมรัตน์, 2531a) ไนโตรเจน (ในรูปเกลือซัลเฟต (Ammonium sulphate) (0.05-0.10%น้ำหนัก) และเกลือฟอสเฟต (Ammonium phosphate) (0.1%น้ำหนัก) ซึ่งไนโตรเจนเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของยีสต์ มีบทบาทสำคัญในด้านเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เอสเทอร์และแอลกอฮอล์ (Torrea *et al*., 2003.)

Torrea และคณะ (2003) ศึกษาผลของการเติมไนโตรเจนชนิดต่างๆ พบว่ายีสต์ที่มีแหล่งไนโตรเจนมากกว่าจะผลิตสารให้กลิ่นรสกลุ่มเอสเทอร์มากในระหว่างการหมัก และทำให้ไวน์มีปริมาณแอลกอฮอล์มากขึ้นด้วย

สมบูรณ์ เตธัญญวรากูล (2536) ทดลองใช้ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนในการหมักไวน์น้ำผึ้งจากดอกสาบเสือ 6 ระดับคือ 0, 0.1, 0.03, 0.05, 0.07 และ 0.09% (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่าปริมาณไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตที่เหมาะสมคือ 0.05% (น้ำหนัก/ปริมาตร) กรดเริ่มต้นที่เหมาะสมคือ 0.3% Khattak และคณะ (1965) ทดลองหมักไวน์แตงโมที่ pH 4.5, 5.0 และ 5.9 พบว่า pH 4.5 เป็น pH ที่เหมาะสมในการหมักไวน์แตงโมด้วยยีสต์ทั้ง 3 เชื้อ

4.2.3 แหล่งคาร์โบไฮเดรตและพลังงาน

ยีสต์จะใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตและพลังงาน น้ำตาลที่ใช้เช่น กลูโคส ฟรุกโตส ซูโครส และมอลโตส แต่ไม่สามารถใช้น้ำตาลแลกโตส เพนโตส เด็กซ์ตริน และแป้งได้ น้ำตาลที่สำคัญที่สุดในการหมักไวน์คือ กลูโคสและฟรุกโตส เนื่องจากจะทำให้ไวน์ที่หมักได้มีกลิ่นรสดี (Amerine *et al.,* 1980a; Glazer *et al*.,1995) น้ำตาลมีผลต่ออัตราการหมักไวน์ของยีสต์ ถ้ายีสต์ใช้น้ำตาลน้อยหรือการหมักเกิดขึ้นเล็กน้อย ไวน์ที่มีรสหวานมากและมีปริมาณแอลกอฮอล์น้อยเรียกว่า ไวน์หวาน (sweet wine) ถ้าขบวนการหมักไวน์เกิดขึ้นจนน้ำตาลในไวน์เหลือน้อยหรือหมดไปและมีเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์สูงเรียกว่า ไวน์ไม่หวาน (Dry wine) ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นในการหมักไวน์ทั่วไปอยู่ระหว่าง 20-24 องศาบริกซ์ ($^{\circ}$Brix) (ปราโมทย์ ธรรมรัตน์, 2531b) ถ้ามีน้ำตาลสูงกว่า 25% การหมักของยีสต์ส่วนใหญ่จะไม่เกิด เนื่องจากแรงออสโมติก (osmotic effect) ทำให้เกิดสภาวะน้ำไหลออกนอกเซลล์ (plamolysis) จากการทดลองของ Schanderl 1959 อ้างโดย Amerine และคณะ (1980a) พบว่าในการหมักไวน์ Trockenbeerenauslese จากน้ำองุ่นที่มีปริมาณน้ำตาล 40-75% อัตราการใช้น้ำตาลของยีสต์จะช้าและปริมาณแอลกอฮอล์สุดท้ายจะอยู่

ที่ 5-9% และยีสต์บางสายพันธุ์ที่สามารถทนปริมาณแอลกอฮอล์สูงๆได้เช่น ไวน์ Auslese ซึ่งยีสต์สามารถหมักให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์ 16% ในสภาวะที่มีปริมาณน้ำตาลในไวน์สูง จะทำให้สามารถผลิตกรดระเหยได้เพิ่มขึ้นด้วย

Mateo และคณะ (1998) พบว่าองุ่นที่นำมาหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* มีปริมาณน้ำตาลอยู่สูง ทำให้หมักได้ ปริมาณแอลกอฮอล์และไดออล (diol) ปริมาณมาก แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นกับการเกิดแอลกอฮอล์ในไวน์มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันในการทำให้เกิดกลิ่นในไวน์

Khattak และคณะ (1965) ทดลองแปรปริมาณน้ำตาล 0-15% ในการหมักไวน์แตงโมด้วยเชื้อยีสต์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *S.cerevisiae* สายพันธุ์ ellipsoideus, *S. cerevisiae* และ *S. fragilis* พบว่าปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมในการหมักไวน์แตงโมด้วยเชื้อยีสต์ทั้งหมดคือ 9 และ 12%โดยเชื้อที่ผลิตแอลกอฮอล์ได้ดีที่สุดคือ *S.cerevisiae* สายพันธุ์ ellipsoideus

ประดิษฐ์ ครุวัณณา และคณะ (2537) ทดลองเติมน้ำเชื่อมในไวน์ลิ้นจี่เพื่อให้มีน้ำตาลรีดิวซ์ 0, 2 และ 4% พบว่าน้ำเชื่อมทำให้กลิ่นและรสของไวน์ลิ้นจี่เป็นที่ยอมรับมากขึ้น และไวน์ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยได้รับคะแนนกลิ่น รส และการยอมรับมากที่สุด แต่ถ้ามีน้ำตาลรีดิวซ์ 2% จะทำให้ไวน์มีรสชาติดีและได้รับการยอมรับ

ประดิษฐ์ ครุวัณณา และคณะ (2532) พบว่าตัวอย่างที่เติมสารอาหารสูตรที่ 3 (กากเปลือกองุ่น 1 กิโลกรัม (สูตรที่ 1) +DAP 9 กรัม+ เซลลูโลส 9 กรัม), 4 (สูตรที่ 1+ เซลลูโลส 9 กรัม), 5 (สูตรที่ 1+ ยูเรีย 9 กรัม) และ 6 (สูตรที่ 5+ เซลลูโลส 9 กรัม) เร่งให้การหมักเสร็จสิ้นใน 10-12 วัน หลังจากสิ้นสุดการหมักมีปริมาณแอลกอฮอล์ 12.1-12.45% โดยปริมาตร มีน้ำตาลรีดิวซ์เหลือ 0-0.25%

4.3 สภาวะการหมัก

อุณหภูมิ มีผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ ยีสต์ส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20-30°ซ (Amerine *et al.*,1980a; Zoeckein ,1995) Torija และคณะ (2003) ซึ่งถ้าหมักไวน์ที่อุณหภูมิสูงกว่า 37 °ซ ยีสต์จะตาย แต่อุณหภูมิสูงสุดที่เชื้อยีสต์เจริญได้สูงขึ้นเล็กน้อย เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีธาตุอาหารสมบูรณ์ (สาวิตรี ลิ่มทอง, 2536) ทดลองหมักไวน์ที่อุณหภูมิ 15 ถึง 35°ซ โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* 20 สายพันธุ์ พบว่าไวน์ที่หมักที่อุณหภูมิต่ำ (15-20°ซ) การหมักเกิดขึ้นช้า เนื่องจากเชื้อยีสต์เริ่มต้นเจริญได้อย่างช้า โดยจะมีช่วง lag phase นาน แต่เมื่อเชื้อยีสต์เจริญถึง 10^8 CFU/ml แล้วปริมาณเชื้อจะอยู่ในช่วง stationary phase นาน โดยเชื้อยีสต์มีจำนวนมากที่สุดวันที่

3 (20-25°ซ) และ 6 วัน (15°ซ) เมื่อสิ้นสุดการหมักน้ำตาลที่เหลือจะมีปริมาณน้อย การหมักไวน์ที่อุณหภูมิสูง (30-35°ซ) เชื้อยีสต์มีปริมาณสูงสุดวันที่ 2 ของการหมัก หลังจากนั้นเชื้อยีสต์ที่มีชีวิตจะลดลงอย่างรวดเร็ว ทำให้เมื่อสิ้นสุดการหมักไวน์ที่ได้มีปริมาณน้ำตาลที่เหลือมากกว่าการหมักที่อุณหภูมิต่ำ

Fuleki (1965) ทดลองหมักไวน์บลูเบอร์รี่ด้วยเชื้อยีสต์ 11 สายพันธุ์ที่อุณหภูมิ 18 และ 26°ซ เป็นเวลา 2 สัปดาห์และ 10 สัปดาห์ พบว่าที่อุณหภูมิ 18°ซ ยีสต์ทุกชนิดจะผลิตแอลกอฮอล์ได้มาก เมื่อหมักไวน์ที่อุณหภูมิสูง (26°ซ) จะทำให้ไวน์สูญเสียแอลกอฮอล์

Sharf และ Margalith (1983) พบว่าที่อุณหภูมิ 30°ซ เชื้อ *S. cerevisiae* เจริญได้ 100% (10^4 cells/ml) ในเวลา 3-5 วัน และจำนวนเชื้อจะลดลง ถ้าเลี้ยงที่ 20°ซ เชื้อเจริญได้ 100% ใน 14 วัน ในขณะที่ 10°ซ เชื้อมีการเจริญน้อยมากแต่ปริมาณเชื้อจะไม่ลดลงเมื่อหลังวันที่ 11

Ough และคณะ (1966) หมักไวน์องุ่นโดยใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ Ellipsoideus และ Montrachet หมักไวน์ที่อุณหภูมิ 10-33°ซ พบว่าปริมาณกรดระเหยเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นและปริมาณกรดระเหยจะสูงสุดที่อุณหภูมิ 24°ซ หลังจากนั้นปริมาณกรดระเหยจะลดลงต่ออุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ส่วนโพรพิล (n-proply) และไอโซบิวทิว (isobutyl) จะมีการเปลี่ยนแปลงตรงข้ามกับเอมิล (amyl) และไอโซเอมิล (isoamyl) ดังนั้นในการตรวจวัดกลิ่นพบว่า เอมิล (amyl) และไอโซเอมิล (isoamyl) เป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นรสในไวน์ การจะทำให้ไวน์มีกลิ่นรสดีต้องหมักที่อุณหภูมิที่เหมาะสมด้วย

Kourkoutas และคณะ (2003) พบว่าไวน์ที่หมักโดยการตรึงยีสต์ที่อุณหภูมิต่ำจะมีปริมาณน้ำตาลเหลือน้อยเหมาะที่จะหมักเป็น dry wine แต่ใช้ระยะเวลานานกว่าจะสิ้นสุดกระบวนการหมัก (50วัน) และพบว่าการหมักไวน์ที่อุณหภูมิต่ำทำให้มีปริมาณเอมิลแอลกอฮอล์ โพรพานอล และไอโซบิวทิวแอลกอฮอล์ลดลง แต่ปริมาณเอทิลอะซิเตทเพิ่มขึ้น

นอกจากอุณหภูมิจะส่งผลต่อกลิ่นรสในไวน์แล้วยังพบว่าสภาวะการหมักไวน์แบบมีอากาศและไม่มีอากาศมีผลต่อการเกิดกลิ่นรสในไวน์ ดังเช่นการทดลองของ Mauricio และคณะ (1997) พบว่าในขบวนการหมักแบบกึ่งมีอากาศ (semiaerobic condition) เอทานอล ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ไอโซบิวทิวแอลกอฮอล์ ฟีแนนทิวแอลกอฮอล์ เอมิล บิวทิว และเฮกซิลอะซิเตทจะผลิตมาก ซึ่งเป็นช่วงที่เซลล์ยีสต์มีการเจริญ 1บิวทานอลและ1เพนทานอลจะผลิตมากในสภาวะแบบไม่มีอากาศ ซึ่งเป็นช่วงที่เซลล์ยีสต์มีการเจริญน้อยลง

4.4 การเก็บบ่มไวน์

ขั้นตอนการบ่มไวน์เป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญต่อกลิ่นรสในไวน์ ถ้าการเก็บรักษาไวน์ไม่ดีจะทำให้ไวน์มีกลิ่น รส สี และกลิ่นหอมของแอลกอฮอล์เปลี่ยนแปลงไปได้ โดยการเก็บรักษาไวน์ที่ดีจะต้องทำให้ไวน์มีความคงตัวทั้งด้านสารเคมี จุลินทรีย์ และกลิ่นรสที่ดี (Gonzalez *et al*., 1996)

ปัจจัยที่ต้องควบคุมในระหว่างการบ่มไวน์คือ ปริมาณออกซิเจนภายในขวดและอุณหภูมิในการเก็บรักษา เพื่อสามารถยืดอายุการเก็บไวน์ได้นานยิ่งขึ้น การเก็บไวน์ที่อุณหภูมิสูงจะทำเกิดกลิ่นรสไม่ดีในไวน์ ทำให้สีของไวน์จางลง อาจเกิดปฏิกิริยาเกิดการเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาล (browning) และทำให้เกิดความขุ่นในไวน์จากโปรตีนได้ด้วย (Workman and Morris, 1992) นอกจากจะต้องควบคุมอุณหภูมิในการเก็บรักษาแล้ว แสงก็มีอิทธิพลต่อการเก็บรักษาไวน์ด้วย (Gonzalez *et al*., 1998.)

ในขั้นตอนการบ่มไวน์เป็นขั้นตอนสำคัญที่จะทำให้องค์ประกอบกลิ่นรสในไวน์ที่เกิดระหว่างการหมักเช่น เทอร์พีน (terpene) โมโนและไดคาร์บอกซิลิกเอทิลเอสเทอร์ และอะซิเตท (Gonzalez *et al*., 1996) เกิดการรวมตัวกันทำให้รสชาติกลมกล่อมยิ่งขึ้น ในระหว่างการบ่มไวน์ในขวดพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นไวน์โดยที่ปริมาณเอสเทอร์เปลี่ยนไปคือ อะซิเตทลดลงและมีการเพิ่มขึ้นของโมโนและไดคาร์บอกซิลิกเอทิลเอสเทอร์มีการเกิดสารใหม่ซึ่งเกิดจากการย่อยสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตและคาร์โรทีน (carotene) และเกิดการลดลงของสารกลุ่มโมโนเทอร์พีนแอลกอฮอล์ (monoterpene alcohol) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ส่งผลต่อกลิ่นรสของไวน์หลังการบ่ม

Gonzalez และคณะ (1996) พบว่าระยะการเก็บรักษาไวน์ที่ 12 เดือน ทำให้มีปริมาณไดเอทิลซัคซิเนทเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บ เอสเทอร์เช่นไอโซเอมิลอะซิเตทและ2ฟีนิลเอทิลอะซิเตทลดลง และพบว่าอะซิตอลดีไฮด์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลา

Jones และคณะ (1986) พบว่าในระหว่างการบ่มไวน์ องค์ประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นที่สำคัญคือ อะซิตอลดีไฮด์เนื่องจากมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาการเก็บบ่มไวน์ ในระหว่างการเก็บบ่มไวน์เอทานอลในไวน์จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้กลายเป็นอะซิตอลดีไฮด์แอนโทไซยานินและเกิดการรวมตัวกับสารกลุ่มฟีนอลิกทำให้เกิดเป็นอะซิตอลดีไฮด์ และทำให้ไวน์มีสีเข้มขึ้น

Mattick และRobinson (1960) ทดลองเก็บบ่มไวน์เชอร์รี่ที่ผลิตจากองุ่น 2 พันธุ์คือ Concord และ Niagara ที่ 60°ซ เป็นเวลา 6 เดือน พบว่าการบ่มทำให้มีปริมาณอะซิตอลดีไฮด์เอสเทอร์ที่ระเหยได้และกรดระเหยเช่น ฟอมิก อะซิติก โพรไพออนิก และแลคติกเพิ่มขึ้น เนื่องจาก

เกิดการออกซิเดชัน (oxidation) ของเอทานอลเป็นอะซิตอลดีไฮด์ ซึ่งกรดอะซิติกอาจเกิดจากปฏิกิริยา browning หรือเกิดออกซิเดชันของอะซิตอลดีไฮด์เป็นกรดอะซิติก

Workman และ Morris (1992) พบว่าสภาวะในการเก็บไวน์ไม่มีผลต่อปริมาณของแข็งและปริมาณแอลกอฮอล์ของไวน์ แต่จะมีผลต่อ pH ความเป็นกรด อัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้กับกรด และเมื่อเก็บบ่มไวน์ที่อุณหภูมิห้อง (21°ซ) และอุณหภูมิสูง (37°ซ) จะเกิดสีน้ำตาลขึ้น และความเสถียรของสีจะน้อยกว่าไวน์ที่บ่มที่อุณหภูมิ 4°ซ

Gonzalez และคณะ (1998) พบว่าเมื่อเก็บบ่มไวน์ขาวเป็นเวลา 6 และ 18 เดือนจะทำให้ไวน์มีกลิ่นซิตริก กลิ่นดอกไม้ กลิ่นแอปเปิ้ล และกลิ่นกล้วยมีกลิ่นแรงมากกว่าการเก็บรักษาไวน์เป็นเวลา 30 และ 42 เดือน ส่วนไวน์ที่มีกลิ่นพริกไทยเขียวและกลิ่นองุ่นหวานมีกลิ่นแรงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 30 และ 42 เดือน มากกว่า 6 และ 18 เดือน ดังนั้นในการจำหน่ายไวน์ทางการค้าควรจะเก็บรักษากลิ่นของไวน์ให้คงอยู่ในระยะเวลาที่นานที่สุดที่ทำให้ไวน์มีกลิ่นและรสไม่เปลี่ยนแปลงไปมาก

Salmon และคณะ (2000) รายงานว่าการบ่มไวน์ในขณะที่มีตะกอนยีสต์อยู่จะทำให้ไวน์มีกลิ่นรสที่กลมกล่อมมากขึ้น และ Alamo และคณะ (2000) พบว่าในการบ่มไวน์โดยใช้ถังไม้โอ๊คนอกจากจะทำให้ไวน์มีกลิ่นรสโอ๊คที่เพิ่มขึ้นจากสารฟีนอลิก (phenolic) แล้วยังทำให้มีปริมาณน้ำตาล กาแลกโทส ฟรุกโตส ไซโลส อะลาบิโนส และกลูโคสเพิ่มขึ้น

5 การชิมไวน์

การชิมไวน์เป็นทั้งวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ เนื่องจากต้องอาศัยประสบการณ์ การเรียนรู้ และอาศัยข้อเท็จจริงซึ่งมีการพิสูจน์ ปัจจุบันนี้พบว่าไม่มีเครื่องมือหรือเครื่องจักรชนิดใดที่สามารถประเมินคุณค่าของไวน์แทนมนุษย์ได้ ถึงแม้มีเครื่องมือที่สามารถตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของไวน์ แต่ยังคงต้องอาศัยการชิมไวน์ด้วยมนุษย์ควบคู่กัน (กมลศักดิ์ ตั้งธรรมนิยม, 2540)

5.1 องค์ประกอบที่ทำให้เกิดรสชาติในไวน์

ความสมดุลในไวน์ เป็นสิ่งสำคัญในการเกิดรสชาติในไวน์ โดยไวน์ต้องมีองค์ประกอบสำคัญ 4 ประการจึงจะเกิดความสมดุลคือ ความเป็นกรด แทนนิน ปริมาณแอลกอฮอล์ และน้ำตาล (กมลศักดิ์ ตั้งธรรมนิยม, 2540; Bell, 1989)

1) กรด คือ ความเป็นกรดหรือ acidity ซึ่งเป็นความเปรี้ยวที่แหลมคม จะมีอยู่ในไวน์ทุกชนิดแต่จะแตกต่างกันตามชนิดไวน์ คุณภาพของไวน์ และเกรดของไวน์ ถ้าไวน์ใหม่ไวน์สดและไวน์ขาวจะมีกรดมากกว่าไวน์เก่าและไวน์แดง ไวน์ที่สมดุลได้จะต้องมีความเป็นกรดไม่มากจนนำโด่ง จนรู้สึกว่าไวน์เปรี้ยวเกินไป
2) แทนนิน คือ สารที่มีอยู่ในเปลือกองุ่นและก้านองุ่น ทำให้ไวน์ออกรสฝาด รสฝาดของไวน์จะไปกลบความหวานและความเปรี้ยวของไวน์ให้ลดลง ดังนั้นไวน์ขาวซึ่งหมักจากน้ำองุ่นโดยไม่มีเปลือกและก้านผสมจึงไม่ค่อยมีแทนนิน ทำให้มีความเปรี้ยวและความหวานมากกว่าไวน์แดง
3) แอลกอฮอล์ คือ ปริมาณดีกรีแอลกอฮอล์ที่อยู่ในไวน์ เกิดจากการหมักน้ำองุ่น ยีสต์จะใช้น้ำตาลแล้วเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ ไวน์ที่ทำจากองุ่นคุณภาพสูงก็จะได้ปริมาณแอลกอฮอล์สูง
4) น้ำตาลก่อนการหมักเป็นไวน์ ถ้าองุ่นคุณภาพต่ำมีน้ำตาลน้อยเกินไป นอกจากจะทำให้ไวน์มีปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำแล้วยังทำให้ไวน์ที่ผลิตได้ไม่มีความเข้มข้นทางรสชาติ

5.2 การทดสอบชิมไวน์

ในการชิมไวน์ส่วนใหญ่ให้คะแนนเป็นตัวเลข ผู้ชิมหรือผู้เชี่ยวชาญจะกรอกคะแนนในใบประเมินผล จำนวนผู้ชิมแปรผันตามขนาดจำนวนตัวอย่างทดลองและชนิดของตัวอย่างโดยปกติจะใช้คนชิมที่ชำนาญ 3-10 คน (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2535; Dawson *et al*., 1963) สถานที่ทำการทดสอบชิมจะต้องมีการเตรียมอ่างสำหรับบ้วนปากหรือเทไวน์ที่เหลือทิ้ง มีแสงสว่างเพียงพอ มีดินสอและกระดาษให้คะแนน และกับแกล้ม กับแกล้มควรจัดแบบธรรมดาเช่น ขนมปัง ขนมปังกรอบ คุกกี้ หรือเนยแข็งกลิ่นอ่อนๆ กับแกล้มที่ดีขึ้นอีกเล็กน้อยได้แก่ ไส้กรอก แฮม เบคอน และ ออเดิร์ฟเป็นต้น เวลาที่เหมาะในการชิมไวน์มีอยู่ 2 ช่วงคือ ช่วงเช้า ระหว่าง 10.00-12.00 น. และช่วงบ่าย ระหว่าง 16.00-18.00 น. เนื่องจากช่วงเวลาดังกล่าวเป็นเวลาที่คนเริ่มรู้สึกหิวเล็กน้อย ซึ่งจะช่วยให้การชิมไวน์มีประสิทธิภาพมากที่สุด เพราะประสาททุกส่วนในการรับรู้ กลิ่น รส และสีทำงานได้เต็มที่ ในการชิมไวน์ควรรินไวน์ไม่เกินครึ่งหนึ่งของความจุของแก้วคือ แก้ว 1 ใบจะรินไวน์ใส่ประมาณ 2-3 ออนซ์ ถ้าจำเป็นจะต้องชิมซ้ำปริมาณอาจลดลงเหลือ 1-1 ½ ออนซ์ ต่อแก้ว (ประดิษฐ์, 2523; ไพโรจน์ วิริยจารี, 2535) การชิมไวน์ของผู้ที่เริ่มต้นหัดดื่มไวน์ ส่วนใหญ่จะชอบไวน์ที่มีรสหวานพอสมควร มีปริมาณแทนนินและแอลกอฮอล์ต่ำ หลังจากมีความคุ้นเคยกับไวน์มากขึ้น ก็จะเริ่มหันมาดื่มไวน์ที่มีรสหวานน้อยหรือไม่หวาน มีแทนนินและแอลกอฮอล์สูงขึ้น (กมล

ศักดิ์ ตั้งธรรมนิยม, 2540)

5.2.1 หลักในการชิมไวน์ (ประดิษฐ์, 2523)

1) ดู ให้ดูความใสและสีของไวน์ สีต้องเป็นไปตามมาตรฐาน ความใสต้องเป็นประกาย (Brilliant) ต้องดูว่าสีอะไรและปริมาณหรือความเข้มมากน้อยเพียงไร เช่น บอกว่าเป็นสีเหลืองหรือสีเหลืองทอง ความเข้มหรือปริมาณของสีอาจเป็นเหลืองอ่อน เหลืองปานกลางหรือเหลืองเข้ม เป็นต้น
2) ดม ให้หมุนไวน์ในแก้วเบาๆ (Swirl) แล้วดมกลิ่นว่ามีกลิ่นผลไม้นั้นๆ หรือเปล่า กลิ่นแรงมากน้อยเพียงไร กลิ่นที่ไม่ต้องการเช่น กลิ่นน้ำส้มชายชู มีหรือไม่ และมากน้อยเพียงไร
3) ดื่ม ให้จิบครั้งแรกแล้วบ้วนทิ้งเป็นการล้างปาก พยายามใช้ลิ้นเขี่ยไวน์ให้กระจายทั่วปากหรือเคี้ยวไวน์ (chewing) แล้วบ้วนทิ้ง จิบครั้งที่สองและสาม เพื่อดูว่าไวน์นั้นเปรี้ยวหรือหวานมากน้อยเพียงไรฝาดหรือเฝื่อนมากน้อยเพียงไร ปริมาณแอลกอฮอล์มากเกินไปหรือน้อยเกินไป ไวน์กลมกล่อมหรือไม่

5.2.2 ชนิดแบบทดสอบชิมไวน์

แบบทดสอบชิมในการตัดสินคุณภาพไวน์ที่สำคัญมี 4 แบบ (ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2523) คือ

1) Difference Tests แบบนี้เป็นวิธีให้ผู้ชิมตัดสินว่าไวน์ที่เขากำลังชิมอยู่ มีความแตกต่างหรือเหมือนกับไวน์ที่ใช้เป็นชุดควบคุม
2) Ranking Tests แบบนี้ให้ผู้ชิมเรียงลำดับไวน์ อาจเรียงลำดับจากสูงสุดไปต่ำสุดเรื่องใดเรื่องหนึ่ง เช่น ความหวาน ความเป็นกรด ฯลฯ หรือคุณภาพ
3) Scoring Tests แบบนี้ให้ผู้ชิมให้คะแนนไวน์ โดยเปรียบเทียบกับไวน์ที่เป็นชุดควบคุมหรือกับไวน์ที่ตั้งเป็นมาตรฐานทางด้านคุณภาพที่ได้รับรางวัลเหรียญทอง ผู้ชิมต้องตัดสินว่าไวน์ที่ชิมนั้นดี ดีกว่า ดีกว่ามาก หรือเลวกว่า ไวน์ที่เป็นชุดควบคุมหรือไวน์เหรียญทอง
4) Hedonic Tests แบบนี้เป็นวิธีที่ง่ายที่สุดโดยผู้ชิมบอกว่าชอบหรือไม่ชอบ ผู้ชิมให้คะแนนความชอบไวน์ตามความรู้สึกของผู้ชิมเองในด้านสี กลิ่นรส และลักษณะปรากฏ

5.2.3 ใบกรอกคะแนนการชิมไวน์

แบบให้คะแนนเพื่อประเมินคุณภาพไวน์มีหลายแบบขึ้นอยู่กับว่าประกวดที่ไหน สำหรับใบคะแนนที่นิยมใช้กันคือ Davis Scorecard เป็นใบให้คะแนนที่ออกแบบโดยคณาจารย์ที่สอนวิชาการผลิตไวน์และการปลูกองุ่นของมหาวิทยาลัยแห่งแคลิฟอร์เนีย เมืองเดวิส สหรัฐอเมริกา ภาคผนวก ก (ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2523)

การให้คะแนนนั้นมีหลายวิธี แต่ที่เป็นสากลและใช้กันมากคือ การให้แบบคะแนนเต็ม 20 คะแนน การดูมีคะแนนเต็ม 3 คะแนน การดมมีคะแนนเต็ม 7 คะแนน และการดื่มมีคะแนนเต็ม 10 คะแนน รวมเป็นคะแนนเต็ม 20 คะแนน โดยการดู การดม และการดื่มจะต้องพิจารณาถึงข้อผิดพลาดแล้วค่อยๆตัดคะแนนออกไปโดยการดูจะตัดคะแนนครั้งละ 0.5 คะแนน การดมจะตัดคะแนนครั้งละ 1.0-1.5 คะแนน และการดื่มถ้าเป็น medium-bodies ให้คะแนน1.0-1.5 คะแนน ถ้าเป็น light-bodies ให้แค่ 0.5 คะแนน จากนั้นจึงพิจารณาความสมดุล 2 คะแนน ถ้าไม่สมดุลเลยให้ 0 คะแนน เพราะความสมดุลในไวน์มีความสำคัญ ส่วนที่เหลืออีก 2 คะแนนเป็นคะแนนความชอบของผู้ชิม (กมลศักดิ์ ตั้งธรรมนิยม, 2540) เมื่อสรุปคะแนนแล้วถ้าไวน์ได้คะแนน 19-20 คะแนนจะถูกจัดอยู่ในระดับยอดเยี่ยม (exceptional) หรือไวน์ยิ่งใหญ่เหนือชั้น 16-18 คะแนน ดีมาก 14-15 คะแนนอยู่ในระดับดี 12-13 คะแนนปานกลางหรือรสชาติมาตรฐาน 10-11 คะแนน ยอมรับได้รสชาติต่ำกว่ามาตรฐาน 0-9 คะแนนรสชาติแย่มาก (กมลศักดิ์ ตั้งธรรมนิยม, 2540)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาสายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมในการหมักไวน์สับปะรด
2. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดระหว่างการเก็บบ่มไวน์ที่หมักจากเชื้อยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ
3. เพื่อศึกษาสายพันธุ์สับปะรดและระดับการเจือจางที่เหมาะสมในการหมักไวน์สับปะรด
4. เพื่อศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์เพคติเนสที่เหมาะสมในการสกัดน้ำสับปะรด
5. เพื่อศึกษาผลของเอนไซม์เพคติเนสต่อการเกิดกลิ่นรสในไวน์สับปะรด