

อุปกรณ์และวิธีการ

วัตถุดิบ

น้ำตาลโตนด เป็นน้ำตาลที่เก็บในตอนเช้า ที่ตำบลบ้านสนามไชย อำเภอสทิงพระ จังหวัดสงขลา ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2533

วิธีการหมักไวน์จากน้ำตาลโตนด

เตรียมสตาร์ทเตอร์ (starter) โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* จากอาหารวุ้น (slant) พีดีเอ จำนวน 2 หลู ใส่ลงในพลาสติก ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีน้ำตาลโตนดที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีมาแล้ว เขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การเตรียมน้ำตาลโตนด นำน้ำตาลโตนดต้มเดือด 15 นาที ทิ้งให้เย็น บรรจุในถังพลาสติกกลมปากแคบ ขนาด 20 ลิตร ซึ่งผ่านการล้างให้สะอาดและ ลวกด้วยน้ำร้อนแล้ว โดยบรรจุวตละ 18 ลิตร เติมสตาร์ทเตอร์ร้อยละ 10 ทุกชั้น ตอนใช้เทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) ปิดปากขวดด้วยจุกสำลี แล้วปล่อยให้เกิดการหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วจึงใส่ตัวตก ก๊าซออกซิเจน (fermenter bunk) ปล่อยให้เกิดการหมักอย่างสมบูรณ์เป็นเวลา 1 เดือน จากนั้นถ่ายไวน์ส่วนที่ใสลงในถังพลาสติกปากแคบที่ผ่านการล้างทำความสะอาด และลวกด้วยน้ำร้อน ได้เป็นไวน์น้ำตาลโตนด จากนั้นนำไวน์ไปกรองโดยใช้เครื่องกรอง (filter press) โดยเติมผงช่วยกรองร้อยละ 1 ปล่อยให้ไวน์หมุ่นเวียนอยู่ในเครื่อง กรองจนกระทั่งไวน์ที่กรองได้มีลักษณะใส บรรจุลงในถังพลาสติกปากแคบที่สะอาด เติม โปตัสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ ปริมาณ 150 ส่วนในล้านส่วน เพื่อป้องกันการเสื่อมเสีย ของไวน์ ปิดฝาด้วยฝาเกลียว เก็บไว้ในห้องเย็น สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณ แอลกอฮอล์, pH, ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้, ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด จากนั้นนำไวน์ น้ำตาลโตนดที่ผ่านการหมักเรียบร้อยแล้ว มาผสมน้ำผลไม้ ซึ่งมีทั้งหมด 3 ชนิด คือ น้ำส้ม น้ำสับปะรด และน้ำเสาวรส โดยทำการผสมเลียนแบบไวน์คูลเลอร์ที่มีจำหน่ายอยู่ตาม ท้องตลาด โดยให้มีปริมาณแอลกอฮอล์อยู่ประมาณ 4.5-5.0 % ปรับปริมาณของแข็งที่ ละลายได้ โดยเติมน้ำตาลทรายให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้เท่ากับ 12 องศาบริกซ์

และปรับ pH ด้วยกรดมีเชนาว (citric acid) ให้อยู่ในช่วง 3.0-3.2 นำไวน์น้ำตาล โตนดที่ผสมน้ำผลไม้เรียบร้อยแล้วมาแช่ในตู้เย็น แล้วทำการทดสอบชิม เพื่อศึกษาว่ากลิ่น รสของผลไม้ชนิดใดที่ผสมกับไวน์น้ำตาลโตนดแล้วเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากที่สุด จากนั้นจึงทำการอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงไปโดยใช้เครื่อง Soda Stream ใส่ขวดแก้ว แล้วปิดด้วยฝาจิบ (crown cap) ทันที ทำการพาสเจอร์ไรซ์ไวน์คูลเลอร์โดยนำไปแช่ใน อ่างน้ำร้อน (water bath) ให้น้ำท่วมระดับที่บรรจุไวน์คูลเลอร์ จนอุณหภูมิของไวน์ คูลเลอร์ถึง 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องสักครู่ หนึ่ง แล้วทำให้เย็นด้วยน้ำเย็น จากนั้นเก็บไวน์คูลเลอร์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง นำตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มาทดสอบชิม เปรียบ เทียบกับไวน์คูลเลอร์ที่มีจำหน่ายอยู่ในท้องตลาด และนำตัวอย่างมาวิเคราะห์คุณภาพต่อไป สำหรับตัวอย่างที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง นำมาตรวจสอบการเสื่อมเสียทางประสาทสัมผัสทุก สัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

การวิเคราะห์คุณภาพของไวน์คูลเลอร์จากน้ำตาลโตนด

1. การวิเคราะห์ทางเคมี

1.1 pH วัดโดยใช้เครื่อง pH meter model HM-7 E. TOA Electronics Ltd. Tokyo Japan.

1.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) โดยใช้ Hand Refractometer ยี่ห้อ ATAGO 0-32 องศาบริกซ์

1.3 ปริมาณกรดทั้งหมด (total acidity) โดยวิธีติเตรทด้วยสารละลาย ลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐาน โดยใช้ 1% ฟีนอล์ฟทาลินเป็นตัวบ่งชี้จุดยุติ แล้ว คำนวณปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแลกติก (AOAC, 1984)

$$\text{ปริมาณกรดแลกติก (กรัม/100 มล.)} = \frac{\text{มล. NaOH} \times \text{นอร์มอล NaOH} \times 0.09 \times 100}{\text{มล. ตัวอย่าง}}$$

วิธีการ

1) ปิเปตตัวอย่าง 5 มิลลิลิตรเติมน้ำกลั่น 45 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วติเตรทกับสารละลายมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล โซเดียม

ไฮดรอกไซด์โดยใช้ฟีนอลฟทาลีนเป็นตัวแสดงจุดยุติ บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรท คำนวณในรูปปริมาณกรดแลกติกตามสูตรข้างต้น

1.4 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธี Phenol Method (AOAC, 1984)

วิธีการ

1) เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน เข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100 และ 120 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2) นำตัวอย่างและสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่เตรียมไว้มาอย่างละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดสอบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 16-20 มิลลิเมตร (ตัวอย่างควรมีน้ำตาลอยู่ 20-100 ไมโครกรัมของกลูโคส) เติม 5 % ฟีนอล 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

3) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 488 นาโนเมตรสำหรับน้ำตาล 6 คาร์บอนหรือ 480 นาโนเมตร สำหรับน้ำตาล 5 คาร์บอน

4) หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยเทียบจากกราฟมาตรฐาน ของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

1.5 ปริมาณแอลกอฮอล์ โดยวิธีไตเตรท (AOAC, 1984) อาศัยการออกซิเดชันของไดโครเมต ซึ่งทำโดยกลั่นตัวอย่างไวน์คูลเลอร์ให้ได้แอลกอฮอล์และจับด้วยสารละลายโพตัสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) ที่ทราบปริมาณและความเข้มข้นที่แน่นอนให้ความร้อนเพื่อให้เกิดการออกซิเดชันของเอธานอลกับไดโครเมตอย่างสมบูรณ์ นำมาไตเตรทกับสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ($Fe(NH_4)_2$) โดยมี 1,10-ฟีแนนโทรีนเป็นอินดิเคเตอร์

วิธีการ

1) บีบตัวอย่าง 1-5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดกลั่น

2) เติมน้ำกลั่น ล้างตัวอย่างลงไปประมาณ 100 มิลลิลิตร

3) บีบสารละลายโพตัสเซียมไดโครเมต 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่

4) ตั้งเครื่องกลั่น โดยให้ปลายเครื่องควบแน่นจุ่มลงในสารละลายโพตัสเซียม

ไดโครเมต

5) กลั่นจนได้สารละลายในขวดรองรับทั้งหมดมีปริมาตร 40 มิลลิลิตร

6) นำขวดรองรับของเหลวที่กลั่นได้ไปวางในอ่างน้ำร้อน อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 20-25 นาที

7) ถ่ายสารละลายนั้นลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร

8) ทิศเตรตด้วยสารละลายเฟอร์รัส แอมโมเนียมซัลเฟต โดยมี 1,10 -พิแนนโทโรลีน เป็นอินดิเคเตอร์ จนได้สารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเขียว เป็นสีน้ำตาลม่วงโดยทันที

9) ทำแบบงก์เช่นเดียวกันโดยใช้น้ำกลั่นอย่างเดียว

ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละโดยปริมาตร) = $25 - 25\frac{A}{B}$

B

A = มิลลิลิตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ทำปฏิกิริยาพอดีกับสารละลายไดโครเมตที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง

B = มิลลิลิตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ติเตรตกับแบบงก์

หมายเหตุ การสังเกตจุดยุติของการติเตรท จะสังเกตเห็นสีเขียวน้ำเงินเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลม่วงได้ยาก เนื่องจากสีทึบ และเกิดการเปลี่ยนสีอย่างรวดเร็ว ให้แกว่งฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร แร่งๆ ดูจุดบางๆ ตรงกลางฟลาสก์ ตรงบริเวณที่สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตตกกระทบ เพื่อช่วยในการมองเห็นอาจใช้แสงไฟ, แท่งสเทอเรีย หรือ เต็มกรดเมตาฟอสฟอริกเข้มข้น ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร หรือกรดอซิฟอสฟอริก ปริมาณ 0.25 มิลลิลิตร เป็นตัวช่วยปรับความเป็นกรด-ด่าง จึงเห็นจุดยุติได้ชัด อินดิเคเตอร์ที่ใช้อาจใช้อินดิเคเตอร์ผสมแทน 1,10-พิแนนโทโรลีนก็ได้ ปริมาณการหยดอินดิเคเตอร์ทุกครั้งควรเท่ากัน เนื่องจากมีผลต่อการเห็นสี ปกติใช้อินดิเคเตอร์

7 หยอด

1.6 การหาปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด (AOAC, 1984)

วิธีการ

1) บีบเปิดสารละลายตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร

2) เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 5 นอร์มอล ปริมาณ 5 มิลลิลิตร

พร้อมทั้งกวนและระวังไม่ตีให้อากาศเข้าไปในสารละลาย

- 3) ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที
- 4) เติมกรดเกลือเข้มข้น 5 นอร์มอล 7 มิลลิลิตร พร้อมทั้งกวนด้วย
- 5) ทิตเรททันทีด้วยสารละลายไอโอดีนเข้มข้น 0.02 นอร์มอล โดยมีน้ำ
แบ่งเป็นอินดิเคเตอร์ จนได้สารละลายสีน้ำเงินเข้ม สมมุติได้ไทเตอร์ = a
- 6) กระทำเช่นเดียวกับข้อ 1-4 แล้วเติมฟอร์มัลดีไฮด์ปริมาณ 10 มิลลิลิตร
- 7) ตั้งไว้เป็นเวลา 10 นาที
- 8) กวนให้เข้ากันแล้วทิตเรทอย่างรวดเร็วด้วยสารละลายไอโอดีน โดยมี
น้ำแบ่งเป็นอินดิเคเตอร์ จนได้สารละลายสีน้ำเงินเข้มคงอยู่อย่างน้อย 15 วินาที สมมุติ
ให้ไทเตอร์มีค่า = b

9) คำนวณหาปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมดจากสูตร

$$\text{ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด (มิลลิกรัม/ลิตร)} = \frac{(a-b) \times N \times 32 \times 1000}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

ปริมาตรตัวอย่าง

N = ความเข้มข้นของสารละลายไอโอดีนมาตรฐาน หน่วยเป็น นอร์มอล

1.7 การหาปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (AOAC, 1984)

วิธีการ

1) ต่อเครื่องมือเข้าด้วยกันดังรูปที่ 3 และจุ่มหลอดทดลองไว้ในบีกเกอร์ที่มีน้ำอุณหภูมิไม่เกิน 20 องศาเซลเซียส

2) ใส่ NaOH ลงในสองหลอดแรก หลอดละ 20 มิลลิลิตร สำหรับหลอดที่สามใส่ NaOH 10 มิลลิลิตร และ BaCl₂ 10 มิลลิลิตร

3) เตรียมตัวอย่างไวน์คูลเลอร์ โดยแช่ขวดไวน์คูลเลอร์ ลงในอ่างน้ำแข็ง (ice-salt bath) ที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เล็กน้อย เป็นเวลา 30 นาที สำหรับไวน์คูลเลอร์ที่มีความจ 1/10 แกลลอน และ 1 ชั่วโมง สำหรับความจ 1/5 แกลลอน จากนั้นเปิดจุกออกแล้วเติม 50% NaOH จำนวน 1.5 มิลลิลิตรต่อไวน์คูลเลอร์ 100 มิลลิลิตรอย่างรวดเร็ว ปิดจุกทันที ด้วยจุกยาง นำไวน์คูลเลอร์ออกจากอ่างน้ำแข็ง เบ้า 2-3 นาที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

4) บีบตัวอย่างที่เตรียมไว้ 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดย่อยแล้วเติม 10% H₂O₂ จำนวน 3 มิลลิลิตร พร้อมเติมลูกปัดกันกระแทก

5) ต่อท่อระบบสุญญากาศ (vacuum line) เข้ากับหลอดสุดท้ายและ
ค่อย ๆ เพิ่มสุญญากาศจนกระทั่งหมดฟอง จากนั้นเปิดสุญญากาศเต็มที่ (ต้องระวังจุกยางอย่า
ให้กระเด็นหรือหลุดระหว่างการเคลื่อนที่ของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์)

6) เติมสารละลายกรดฟอสฟอริกในกรวยหยดแล้วค่อย ๆ ปล่อยกรดลงในขวด
ย่อย กวนเบา ๆ เพื่อให้กรดผสมกับตัวอย่าง

7) ค่อย ๆ เพิ่มความร้อนจนเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อย่างช้า ๆ จาก
นั้นเพิ่มความร้อนขึ้นอีก

8) หลังจากเกิดของเหลวซึ่งเกิดจากการกลั่น 2-3 มิลลิลิตร และส่วนบน
ของหลอดแรกอุ่นขึ้น แสดงว่าก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทั้งหมดผ่านเข้าสู่หลอดรับแก๊สหมด
แล้ว ปิดสุญญากาศ และปล่อยอากาศเข้าทางกรวยหยดจนกระทั่งความดันเกิดสมดุลย์

9) ถ่ายของเหลวจากทุกหลอดพร้อมล้างหลอดด้วยน้ำกลั่นลงในฟลาสก์ขนาด
500 มิลลิลิตร

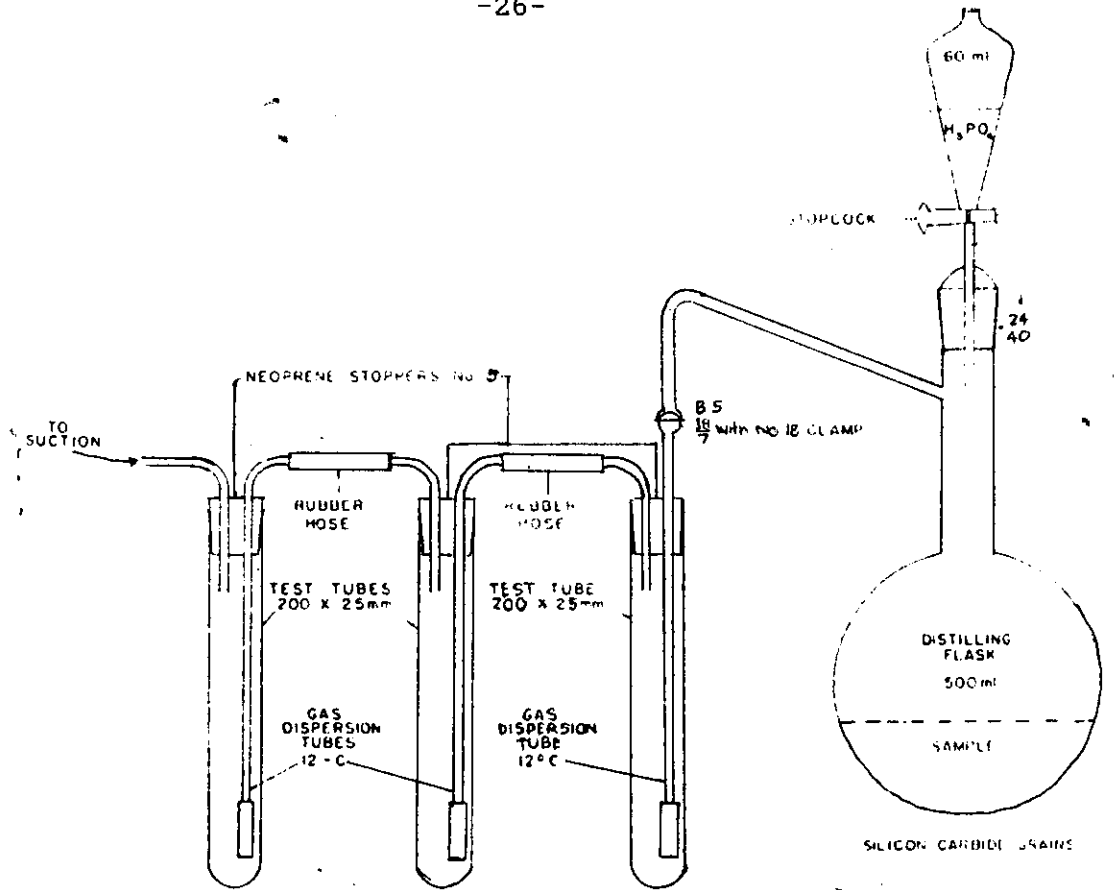
10) เติมสารละลาย $BaCl_2$ 50 มิลลิลิตร แล้วติเตรตด้วยสารละลาย
กรดเกลือมาตรฐาน โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (กรัม/100 มิลลิลิตร)

$$= [(ml.NaOH \times N) - (ml.HCl \times N)] \times 0.022 \times \frac{100}{x} \times 1.015$$

๕๐

N = นอร์มอลิตี



รูปที่ 3 เครื่องมือในการหาปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์

2. การทดสอบทางประสาทสัมผัส

โดยใช้ผู้ทดสอบชิม 20 คน โดยครั้งแรกจะทดสอบชิมเพื่อหาชนิดของน้ำผลไม้ที่ผสมกับไวน์น้ำตาลโตนดแล้วให้กลิ่นรสที่ดีที่สุด โดยใช้การทดสอบชิมแบบ 9-points Hedonic scale ส่วนที่สองจะทดสอบชิมตัวอย่างไวน์คูลเลอร์จากน้ำตาลโตนดที่ผ่านการอัดก๊าซและพาสเจอร์ไรซ์เรียบร้อยแล้ว เปรียบเทียบกับตัวอย่างมาตรฐานที่มีจำหน่ายในท้องตลาดโดยใช้การทดสอบชิมแบบ Ranking test โดยให้จัดลำดับความชอบเรียงลำดับ 1 คือ ชอบมากที่สุด

การเตรียมตัวอย่าง

นำขวดบรรจุไวน์คูลเลอร์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนการทดสอบชิม 1 คืน จากนั้นเทใส่แก้วใบเล็กสำหรับทดสอบชิม ให้ผู้ทดสอบชิมตัดสินคะแนนลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รส และคุณลักษณะรวม โดยทดสอบในเวลา 10:00 น. วิเคราะห์ความแตกต่างของแต่ละตัวอย่างทางสถิติโดยใช้วิธี LSD (Least Significant Difference)