

Received: December 17, 2019; Revised: April 15, 2020; Accepted: April 20, 2020

## สภาวะที่เหมาะสมในการหมักไวน์ลำตวนโดยใช้กล้าเชื้อแบบตรึงเซลล์

## The optimum conditions for fermentation of Lamduan wine using immobilized cell culture

นุจรี สอนสะอาด<sup>1\*</sup>, สุภาพร รักษ์<sup>1</sup> และวิลาวลัย เกสร<sup>1</sup>Nootjaree Somsaet<sup>1\*</sup>, Supaporn RaPhakchee<sup>1</sup> and Wilawan Kesorn<sup>1</sup><sup>1</sup>คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์

\* Corresponding Author E-mail Address: 123Nootjaree46@hotmail.com

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอัตราส่วนของผลลำตวนต่อน้ำ อุณหภูมิ และรูปแบบกล้าเชื้อ ที่เหมาะสมในการหมักไวน์ลำตวน ผลการทดลองพบว่าอัตราส่วน 1:2 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดในการหมักไวน์ลำตวน มีปริมาณสูงแอลกอฮอล์ 14.97 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมัก คือ 25°C ซึ่งยีสต์สามารถหมักไวน์ได้แอลกอฮอล์ในปริมาณสูง มีจำนวนเซลล์ยีสต์ที่นับได้สูงที่สุด คือ  $6.0 \times 10^5$  cfu/ml รูปแบบกล้าเชื้อแบบสด แบบแห้ง และแบบการตรึงเซลล์ที่ใช้ พบว่า กล้าเชื้อแบบตรึงเซลล์และแบบยีสต์สด พบปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดคือ 9.43 และ 9.40 เปอร์เซ็นต์ ( $p > 0.05$ ) ขณะที่ไวน์ลำตวนที่ใช้กล้าเชื้อยีสต์สด พบว่ามีฟีนอลิกและแอนโทไซยานินสูงสุด เท่ากับ 3.79 mg GAE/ml และ 24.63 mg/L ซึ่งทำให้ไวน์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด โดยวิธี DPPH ( $EC_{50}$ ) มีปริมาณค่าเท่ากับ 80.05 mg/ml การประเมินทางประสาทสัมผัส ผู้บริโภคให้การยอมรับไวน์ลำตวนที่ใช้กล้าเชื้อแบบแห้งและแบบตรึงเซลล์ คะแนนความชอบโดยรวม มีคะแนน 8.17 และ 8.00 ดังนั้นประโยชน์กล้าเชื้อแบบตรึงเซลล์ คือ จะช่วยให้กระบวนการหมักเป็นไปอย่างช้าๆ ซึ่งส่งผลต่อดีต่อการปลดปล่อยสารที่ให้แก่ลิ้นรส รวมถึงสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งจะทำให้ได้ ไวน์ที่มีคุณภาพดี

คำสำคัญ: ลำตวน ไวน์ ยีสต์สด ยีสต์แห้ง การตรึงเซลล์

## Abstract

The objective of this study was to investigate the ratio of Lumduan to water, temperature and form of culture starter used for Lumduan wine fermentation. The results revealed that 1:2 was the suitable ratio of Lumduan to water for Lumduan wine fermentation and can produce the almost alcohol content of 14.97%. The optimal fermentation temperature was 25°C, where yeast can produce highest alcohol with the highest total yeast count of  $6.0 \times 10^5$  cfu/ml. According to the culture starters used, immobilized and fresh yeast produced the highest alcohol of 9.43% and 9.40%, respectively ( $p > 0.05$ ). Whereas Lumduan wine using

fresh yeast provided the highest phenolics and anthocyanin content of 3.76 mg GAE/ml and 24.63 mg/L, respectively, which resulted in the highest antioxidant activity of 80.05 mg/ml using DPPH (EC<sub>50</sub>) method. Sensory evaluation showed that the overall acceptance scores of dried yeast and immobilized yeast were 8.17 and 8.00, respectively. Hence, the advantages of immobilized culture were that the fermentation process occurred slowly that aromatic and antioxidant substances were gradually released which gave wine good characteristics and had highest total yeast count left.

**Keywords:** Lumduan, Wine, Fresh yeast, Dry yeast, Immobilization

## บทนำ

ไวน์เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเป็นอย่างมากเนื่องจากไวน์มีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยไวน์จะกระตุ้นน้ำย่อยของร่างกายมีผลทำให้เกิดความอยากอาหารเพิ่มมากขึ้น บรรเทาอาการของโรคบางอย่าง เช่น ต้มเพื่อระงับอาการเจ็บปวด ช่วยขับปัสสาวะ ช่วยระงับความ ตื่นเต้น รักษาโรคความดันโลหิตต่ำ ทำให้หลอดเลือดหัวใจไม่ตีตัน เป็นต้น สำหรับไวน์แดงที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดส่วนมากจะทำมาจากองุ่น จะให้สีแดงถือว่าเป็นไวน์ชนิดหนึ่งที่ผู้บริโภคนิยมซื้อไปดื่มมากที่สุด เนื่องจากสีสวย รสชาติกลมกล่อม และยังอุดมไปด้วยสารแอนติออกซิแดนท์ในองุ่นพันธุ์สีแดงชนิดต่าง ๆ นอกจากองุ่นแดงที่นิยมนำมาทำไวน์แล้วยังพบว่าการนำผลไม้ชนิดอื่นมาใช้ในการผลิตไวน์แดงที่ได้รับการยอมรับและมีรสชาติที่ดีและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเช่นกัน ลำดวนเป็นผลไม้พื้นบ้าน ผลลำดวนเป็นผลสดแบบมีเนื้อ ออกผลเป็นกลุ่ม ลักษณะของผลเป็นรูปทรงกลมรี ผลอ่อนเป็นสีเขียว เมื่อแก่แล้วจะเปลี่ยนเป็นสีแดง รับประทานได้โดยจะมีรสหวานอมเปรี้ยวและมีสารต้านอนุมูลอิสระ มีปริมาณฟีนอลิก 30.40 mg/l (Bindon et al., 2013) จึงมีความสนใจที่จะนำลำดวนมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ไวน์

การตรึงเซลล์เป็นเทคโนโลยีที่นิยมนำมาใช้ในการหมักแอลกอฮอล์อย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีข้อได้เปรียบทางเทคโนโลยีและเศรษฐกิจต่างๆ และยังสามารถใช้กับระบบการหมักแบบต่อเนื่องได้ดี อีกทั้งถ้าเชื้อที่ทำการตรึงเซลล์ยังสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้ทำให้ลดต้นทุนได้ โดยเมื่อเทียบการใช้เซลล์แบบตรึงเซลล์กับการใช้เซลล์แบบอิสระ โดยการตรึงเซลล์จะทำให้ได้ผลผลิตเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากเซลล์สามารถต้านทานสารยับยั้งสารการเจริญ เช่น กรด อุณหภูมิ เอทานอล สารประกอบฟีนอล และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (Genisheva et al., 2011) นอกจากผลของการตรึงเซลล์จะดีต่อเซลล์ของจุลินทรีย์ยังมีผลต่อคุณภาพของกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมไวน์ซึ่งพบว่าการตรึงเซลล์จะทำให้ไวน์หลังการหมักยังคงมีสารให้กลิ่นรสในไวน์ปริมาณสูงเมื่อเทียบกับการใช้เซลล์แบบอิสระ และยังส่งผลต่อการลดระยะเวลาการบ่มไวน์ได้ (Lerma et al., 2018)

ดังนั้นจึงมีความน่าสนใจในการนำรูปแบบก้ำเชื้อแบบตรึงเซลล์มาใช้เป็นอย่างมาก เพื่อเพิ่มการผลิตและทำให้ไวน์ลำดวนคุณภาพทางด้าน สี กลิ่นรสและสารสำคัญในลำดวน นอกจากนี้ลำดวนยังเป็นผลไม้ที่หายาก มีราคาสูงและมีความเป็นเอกลักษณ์ และไวน์ชนิดนี้ยังไม่มีจำหน่ายในท้องตลาดจึงน่าจะเป็นทางเลือกที่ตื่นเต้นให้กับผู้บริโภค อีกทั้งการนำก้ำเชื้อแบบตรึงเซลล์มาใช้อาจสามารถนำก้ำเชื้อในรูปแบบเม็ดบีดที่ผ่านการใช้หมักไวน์แล้วนำกลับมาใช้ได้อีก ซึ่งสามารถช่วยลดขั้นตอนการเตรียมก้ำเชื้อและลดต้นทุนการผลิตไวน์ได้ดี ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ คือ ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักไวน์ลำดวนให้ได้ประสิทธิภาพมากที่สุดโดยจะศึกษาสภาวะต่างๆ ได้แก่ อัตราส่วนของลำดวนต่อน้ำ อุณหภูมิ และรูปแบบก้ำเชื้อ ที่มีผลต่อคุณภาพต่อการผลิตไวน์ลำดวน

## วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

### การเตรียมลำคานและการสกัดน้ำลำคาน

ตัวอย่างผลลำคานสุกจากตลาดช่องจอม อำเภอกาบเชิง จังหวัดสุรินทร์ คัดเลือกเฉพาะผลสุกมีสีดำ เนื้อไม่เละ เอาใบและก้านออก ล้างให้สะอาด ผึ่งผลลำคานที่ผ่านการล้างให้สะอาดให้แห้ง ซึ่งผลลำคาน 1,000 กรัม บรรจุเก็บในถุงพลาสติกปิดสนิท และแช่ในตู้แช่แข็ง -20°C เพื่อใช้ในการทดลอง

### การเตรียมสตาร์ทเตอร์ (starter)

การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ผง สำหรับทดสอบการหาสภาวะการหมัก เตรียมน้ำลำคานที่อัตราส่วน 1:2 กรัมต่อลิตร ใส่ขวดปริมาตรจำนวน 90 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C เวลา 20 นาที ทำให้เย็น ซึ่งยีสต์ผงสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* var. *cerevisiae* จำนวน 0.2 กรัม (กล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ  $1.0 \times 10^6$  cfu/ml) ค่อย ๆ เทยีสต์ลงในน้ำลำคานที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 90 มิลลิลิตร หมักไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์สด (ปัญญาดิลก และคณะ, 2558) ทำการเพาะเลี้ยงยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* var. *cerevisiae* บนอาหารเลี้ยง Yeast malt agar (YMA) บ่มที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ขูดโคลนที่เจริญบนอาหาร YMA จำนวน 1 หลบ ใส่ขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำลำคานที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปริมาตร 150 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้กล้าเชื้อสดมีปริมาณเซลล์ยีสต์เริ่มต้น เท่ากับ  $10^5$  cfu/ml

การเตรียมกล้าเชื้อตรงเซลล์ ดัดแปลงตามวิธีของศศิธร (2550) ดังนี้ การเตรียมเชื้อยีสต์ใน peptone water โดยใช้รูปเชื้อโคลนยีสต์มา 2 โคลน ใส่ใน 0.1 % ของเปปโตนวอเตอร์ จำนวน 9 ml นำไปเทียบความเข้มข้นกับหลอด Mc farland No. 0.5 ปริมาณเซลล์ยีสต์เท่ากับ  $10^5$  cfu/ml จากนั้นละลาย sodium alginate ในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 2% จากนั้นผสมเชื้อยีสต์กับ sodium alginate ในอัตราส่วน 1:1 คนให้เข้ากัน และดูดส่วนผสมด้วยกระบอกไซริงค์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปลอ่ยส่วนผสมลงบน  $\text{CaCl}_2$  ความเข้มข้น 2% ทั้งให้เจลแข็งตัว 30 นาที นำเม็ดยาเจลเก็บในสารละลายเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อใช้ในการทดสอบ

### การศึกษาการหมักไวน์ลำคาน

การหมักไวน์ด้วยกล้าเชื้อรูปแบบต่างๆ ทำการทดสอบหาสภาวะการหมักไวน์ลำคาน ศึกษาอัตราส่วนลำคานต่อน้ำที่เหมาะสม ซึ่งมีระดับการเจือจาง 1:1 1:2 และ 1:3 กรัมต่อน้ำลำคาน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักไวน์ ได้แก่ 25 °C, 30°C และ 35°C นำผลการทดสอบที่ได้ใช้ในการศึกษาการหมักไวน์ด้วยรูปแบบกล้าเชื้อตรงเซลล์ กล้าเชื้อสด และกล้าเชื้อแบบแห้ง การหมักไวน์ลำคานโดยใช้น้ำลำคานที่มีอัตราส่วนการเจือจางน้ำ 1: 2 (ลำคาน:น้ำสะอาด) จำนวน 1,000 ml ปรับความหวานด้วยน้ำตาล โดยให้ปริมาณของแข็งสุดท้าย เท่ากับ 20 องศาบริกซ์ ปรับค่า pH เริ่มต้นในช่วง 3.0-3.5 เติมน้ำโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (Potassium Metabisulphite, KMS) 150 ppm เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำลำคาน แบ่งน้ำลำคานใส่ใน ฟลาสก์ ขนาด 500 ml ปิดฝาด้วยจุกสำลี ตั้งทิ้งไว้หนึ่งคืน เพื่อให้ KMS สลายตัว จากนั้นเติมกล้าเชื้อ แบบสดจะใช้ 0.2 กรัม กล้าเชื้อสดที่เตรียมในน้ำลำคาน เติมน้ำ 5 ml และกล้าเชื้อแบบตรงเซลล์ใช้ 5 กรัม โดยปริมาณกล้าเชื้อที่เติมทั้งหมดต่อน้ำลำคาน 250 ml หมักไวน์ลำคาน ที่อุณหภูมิ 25°C นำตัวอย่างไวน์ที่ได้ทดสอบคุณภาพ

### การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี

การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก ด้วยวิธี AOAC (2000) นำตัวอย่างไวน์ 50 มิลลิลิตร เติมน้ำคาร์บอน 0.4 กรัม คนให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 10 นาที กรองด้วยกระดาษกรองสาร ปิดตัวอย่างส่วนที่กรองได้มา 5 ml นำไปไทเทรตกับ

สารละลายต่างมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N คำนวณปริมาณกรด ในรูปร้อยละของน้ำหนักตัวอย่าง ปริมาณ แอลกอฮอล์ด้วย Alcohol refractometer รุ่น 511ATC และปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ (Total soluble solid, TSS) ด้วย Refractometer รุ่น RHW-25 ATC (0-40%) ที่อุณหภูมิ 30°C การวัดค่าความเป็นกรดต่าง เครื่องวัด pH meter รุ่น SP-2100, Suntex, Taiwan

#### ตรวจนับจำนวนปริมาณยีสต์ทั้งหมด

ดูดตัวอย่างไวน์ลำดวน 10 ml ใส่ลงในขวดที่มี 0.1 เปอร์เซ็นต์ Peptone water ปริมาตร 90 ml ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic Techniques) เขย่าให้เข้ากัน แล้วทำการเจือจางตัวอย่างโดยการปิเปต 1 มิลลิลิตร ของตัวอย่างไวน์ลำดวนลงใน 0.1เปอร์เซ็นต์ Peptone water ปริมาตร 9 ml เจือจางตัวอย่างไวน์ลำดวนที่  $10^{-2}$  เท่า ถึง  $10^{-5}$  ดูดตัวอย่างไวน์ลำดวนที่ระดับ การเจือจางต่างๆจำนวน 0.1 ml ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารแข็ง Yeast Malt Agar ทำการเกลี่ยลงบนอาหารแข็งด้วย Sterile Spreader ปล่อยให้แห้ง แล้วนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่ 25°C เป็นเวลา 3-5 วัน นับจำนวนโคโลนียีสต์ทั้งหมดบน อาหารเลี้ยงเชื้อ รายงานจำนวนยีสต์ทั้งหมดที่นับได้เป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรของตัวอย่างไวน์

#### การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (Total anthocyanidins; TAntho) ด้วยวิธี pH Differential Method ตามวิธี ของ AOAC (2005) วิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolics, TP) (Karunrat et al., 2018) และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี วิธี Free radical scavenging antioxidant (DPPH assay) (Karunrat et al., 2018)

#### การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค

จำนวนผู้ทดสอบชิม 30 คนที่ไม่ผ่านการฝึกฝน ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านความใส ความฝาด ความหวาน กลิ่น รสชาติและความชอบโดยรวม โดยวิธีการชิมแบบให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9-Point Hedonic Scale) วางแผนการ ทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design : RCBD)

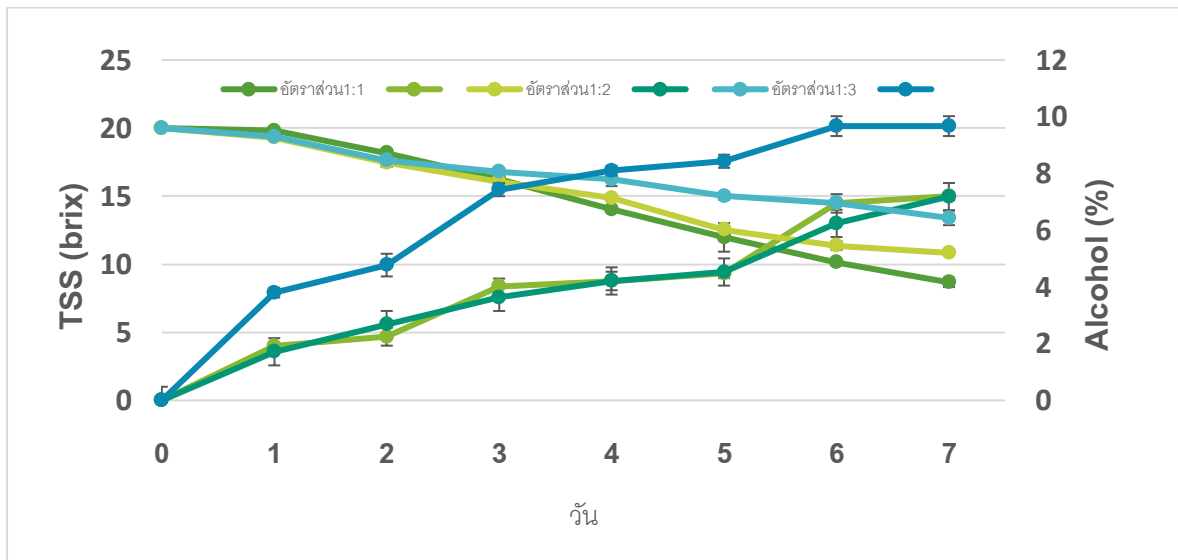
#### การวิเคราะห์ทางสถิติ

รายงานผลในรูปของค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD) โดยใช้ค่าจากการทดลองอย่างน้อย 3 ซ้ำ (n=3) และ คำนวณความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างด้วย ANOVA (Analysis of variance) ที่ระดับความน่าเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05) การวิเคราะห์ความสัมพันธ์พิจารณาจากความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อ p<0.05

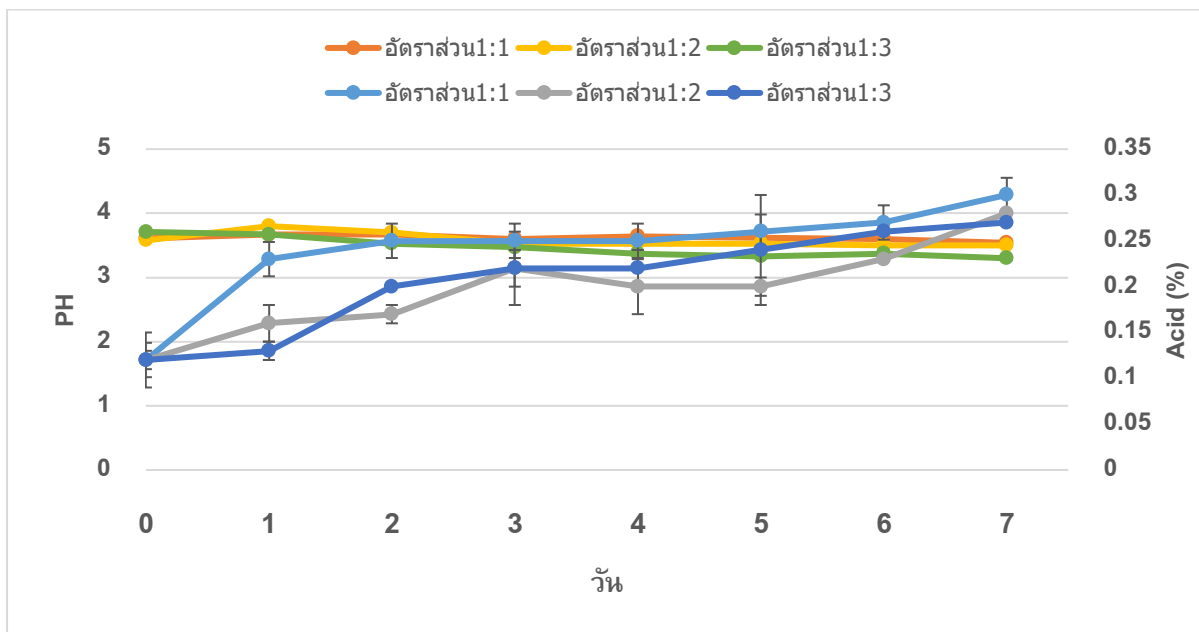
#### ผลการวิจัย

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total soluble solid, TSS) ปริมาณแอลกอฮอล์ ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณกรด และจำนวนยีสต์ ของไวน์ลำดวนในอัตราส่วนของลำดวนต่อน้ำที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาการหมัก 1 สัปดาห์ จาก การทดลองพบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในไวน์ลำดวนในอัตราส่วนของลำดวนต่อน้ำที่ 1:1, 1:2 และ 1:3 ที่ระยะเวลา การหมัก 1 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณของแข็งมีแนวโน้มลดลงเนื่องจากยีสต์ใช้น้ำตาลเพื่อการเจริญ พบว่าปริมาณค่า TSS ในไวน์ ลำดวนที่อัตราส่วนการเจือจางต่าง ๆ มีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นเดียวกัน ดังรูปที่ 1 ค่า TSS ในไวน์ลำดวนหลังจากหมัก 7 วัน พบว่า มีปริมาณTSS ที่ลดลงทุกอัตราส่วน และมีการลดลงอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าตัวอย่างไวน์ลำดวน ที่อัตราส่วน 1:1 และ 1:2 มีการลดลงของค่า TSS มากที่สุด โดยลดลงจาก

บrix เริ่มต้น 20 องศาบrix (Brix) โดยมีค่าเท่ากับ  $8.67 \pm 0.35$  และ  $10.83 \pm 0.15$  องศาบrix ปริมาณแอลกอฮอล์ ในวันสุดท้ายของการหมักไวน์ลำตวน มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดเท่ากับ 15.00 และ 14.97% โดยปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งสองอัตราส่วนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ค่า pH และปริมาณกรด ของไวน์ลำตวนมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยตลอดเวลาการหมัก 2 สัปดาห์ดังรูป 2 มีค่ากรดต่าง เท่ากับ 3.30-3.54 ส่วนปริมาณกรดในไวน์พบว่าตลอดระยะเวลาการหมักมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยวันที่ 7 นั้น ปริมาณอยู่ระหว่าง 0.27-0.30% ดังรูปที่ 2



รูปที่ 1 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ลำตวน ที่มีการเจือจางน้ำที่ระดับต่าง ๆ (ลำตวน:น้ำ)



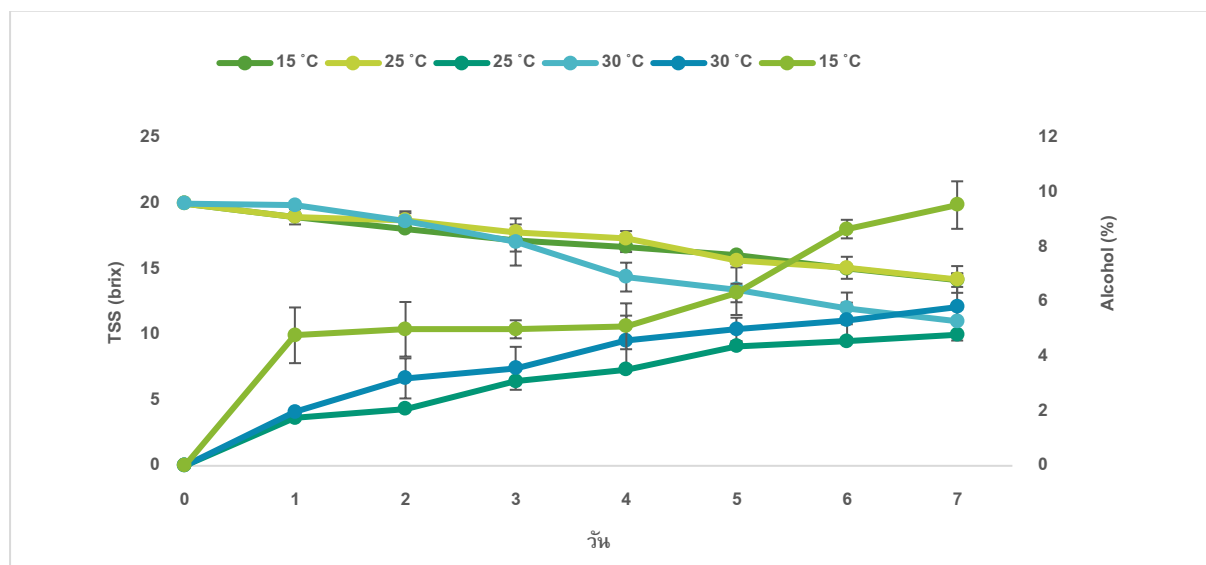
รูปที่ 2 ปริมาณกรดและค่าความเป็นกรด-ด่างในไวน์ลำตวน ที่การเจือจางน้ำที่อัตราส่วน (ลำตวน:น้ำ) ระดับต่าง ๆ หมัก 1 สัปดาห์

การนับจำนวนเซลล์ยีสต์ในการหมักไวน์ลำควน พบว่า วันที่ 1 ของการหมัก เซลล์ยีสต์มีจำนวนเพิ่มขึ้นรวดเร็วและพบมากที่สุดในวันที่มีอัตราส่วนของลำควน:น้ำ ที่ 1:2 มีจำนวนเซลล์ยีสต์ที่นับได้ เท่ากับ  $1.9 \times 10^6$  cfu/ml แต่พบว่า ในวันที่ 3-5 ของการหมักไวน์ เซลล์ยีสต์เริ่มมีจำนวนคงที่เนื่องจากการเจริญคงที่ พบปริมาณจำนวนยีสต์มากที่สุดที่นับได้ ในวันที่มีอัตราส่วนการเจือจางน้ำในอัตรา 1:1 ยีสต์ที่นับได้มีค่าเท่ากับ  $7.2 \times 10^6$  cfu/ml และจำนวนยีสต์จะเริ่มลดลงวันที่ 6 และ 7 พบจำนวนยีสต์ที่นับได้ในวันที่มีการเจือจางน้ำที่ อัตราส่วน 1:2 มีจำนวนเซลล์ยีสต์ที่นับได้สูงสุด เท่ากับ  $4.2 \times 10^6$  cfu/ml ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนยีสต์ทั้งหมดที่นับได้ในไวน์ลำควนที่มีอัตราส่วนของผลลำควนต่อน้ำที่ระดับต่าง ๆ หมัก 1 สัปดาห์

| ระยะเวลาการหมัก (วัน) | จำนวนยีสต์ทั้งหมด (cfu/ml) |                   |                   |
|-----------------------|----------------------------|-------------------|-------------------|
|                       | อัตราส่วน 1:1              | อัตราส่วน 1: 2    | อัตราส่วน 1: 3    |
| 0                     | $4.1 \times 10^5$          | $4.3 \times 10^5$ | $4.9 \times 10^5$ |
| 1                     | $9 \times 10^5$            | $1.9 \times 10^6$ | $1.8 \times 10^6$ |
| 3                     | $7.1 \times 10^6$          | $1.3 \times 10^6$ | $8 \times 10^5$   |
| 5                     | $7.2 \times 10^6$          | $3.8 \times 10^6$ | $1.7 \times 10^6$ |
| 7                     | $3.5 \times 10^6$          | $4.2 \times 10^6$ | $1.9 \times 10^6$ |

ดังนั้นจะเห็นว่าการหาสภาวะของอัตราส่วนที่เหมาะสมของลำควน:น้ำ ในการหมักไวน์ลำควนมากที่สุด คืออัตราส่วนที่ 1:2 เนื่องจากให้ค่าปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงและยังคงเหลือปริมาณ TSS ที่สูงกว่าและมีจำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้ปริมาณมากที่สุดซึ่งนั้นแสดงไวน์ยังคงสามารถหมักได้อีกต่อไปและนอกจากนี้ยังพบว่าการเตรียมน้ำลำควนที่อัตราส่วน 1:1 มีความเข้มข้นมากและได้ปริมาณน้ำน้อยในการผลิตไวน์จะทำให้ผลของต้นทุนสูงเนื่องจากผลลำควนสุกมีราคาแพงดังนั้นเพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิต จึงเลือกอัตราส่วนดังกล่าวเพื่อนำไปศึกษาเพื่อศึกษาสภาวะอื่นต่อไป

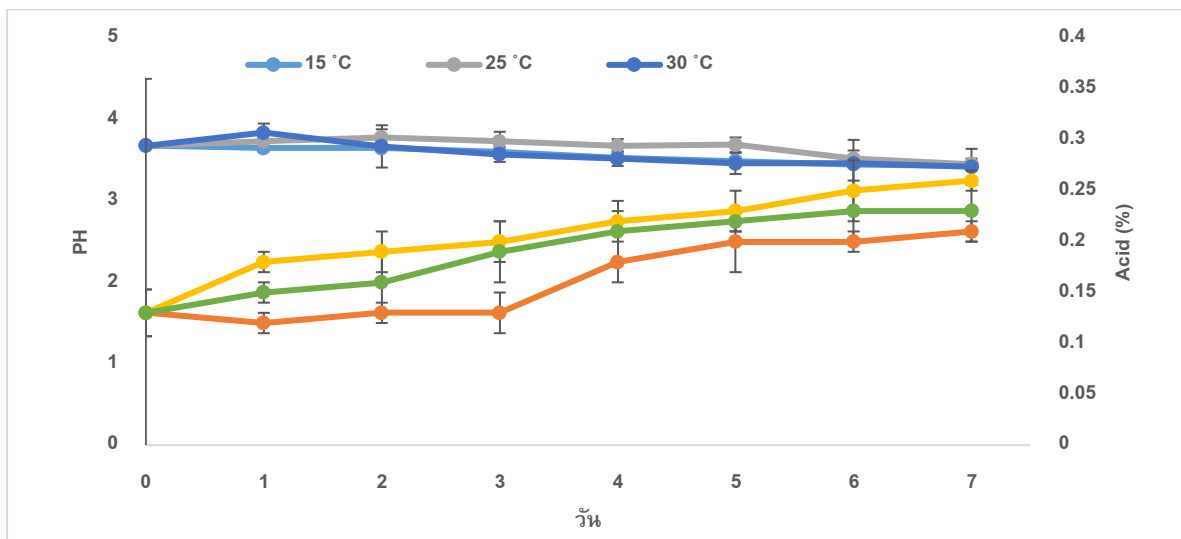


รูปที่ 3 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และปริมาณแอลกอฮอล์ที่ใช้อุณหภูมิในการหมักที่แตกต่างกัน หมัก 1 สัปดาห์

ผลการวิเคราะห์สภาวะของอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักไวน์ ที่อุณหภูมิ 15°C, 25°C และ 30°C โดยมีการตรวจวิเคราะห์ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณแอลกอฮอล์ ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณกรด และปริมาณจำนวนยีสต์ ที่

ระยะเวลาการหมัก 1 สัปดาห์ จากการทดลองพบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในไวน์ลำคาน พบว่าที่อุณหภูมิ 30°C มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้น้อยที่สุด โดยวัดค่าได้เท่ากับ 11.03 องศาบริกซ์ (Brix) ซึ่งพบว่าปริมาณของแข็งที่ลดลงในไวน์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ กับไวน์ลำคานที่หมักที่หมักที่อุณหภูมิการหมักที่ 15 และ 25°C ดังรูปที่ 3 และพบว่าปริมาณแอลกอฮอล์มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและต่อเนื่องโดยจะสัมพันธ์กับปริมาณของแข็งที่ลดลง และในวันที่ 7 ของการหมักไวน์ ที่อุณหภูมิหมักไวน์ที่ 30°C มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดที่ตรวจวัดได้ คือ มีปริมาณแอลกอฮอล์ เท่ากับ 12.11%

ค่าความเป็นกรด-ด่าง ตลอดระยะเวลาการหมักนั้นมีความโน้มถ่วงลดลงแต่พบการลดลงเพียงเล็กน้อย พบว่าวันที่ 7 ของการหมักพบค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ที่ 3.42-3.45 ( $p>0.05$ ) เปอร์เซ็นต์ ดังรูปที่ 4 ส่วนปริมาณกรดในไวน์ ตลอดระยะเวลาการหมักมีความโน้มถ่วงเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ปริมาณอยู่ระหว่าง 0.21-0.26% ( $p>0.05$ ) ดังรูปที่ 4 ในไวน์ที่หมักเป็นเวลา 7 วัน



รูปที่ 4 ปริมาณกรดและค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใช้อุณหภูมิในการหมักที่แตกต่างกัน หมัก 1 สัปดาห์

การตรวจนับจำนวนยีสต์ในตัวอย่างไวน์ที่หมักที่อุณหภูมิต่างกัน พบว่า ในวันที่ 2 จำนวนยีสต์ที่นับได้ มีจำนวนที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วพบมากที่สุดที่ อุณหภูมิการหมักที่ 30°C มีจำนวนทั้งหมด เท่ากับ  $2.31 \times 10^6$  cfu/ml ดังตารางที่ 2 และจำนวนยีสต์เริ่มมีการเจริญคงที่และมีแนวโน้มลดลงทุกอุณหภูมิในการหมัก และในวันสุดท้ายพบว่าที่อุณหภูมิ 25°C ยังคงตรวจพบจำนวนยีสต์ได้มากที่สุด เท่ากับ  $6 \times 10^5$  cfu/ml

ดังนั้นจากการทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสม ในการหมักไวน์ลำคาน นั้นคืออุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เนื่องจากมียีสต์หมักได้ดีให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูง มีปริมาณค่า TSS ที่วัดได้ภายหลังการหมักยังคงสูง และนอกจากนี้ยังมีจำนวนยีสต์ในไวน์ที่ปริมาณสูง จึงเลือกสภาวะดังกล่าวเพื่อนำไปทดสอบหาสภาวะของรูปแบบของกล้าเชื้อในการหมักไวน์ลำคาน

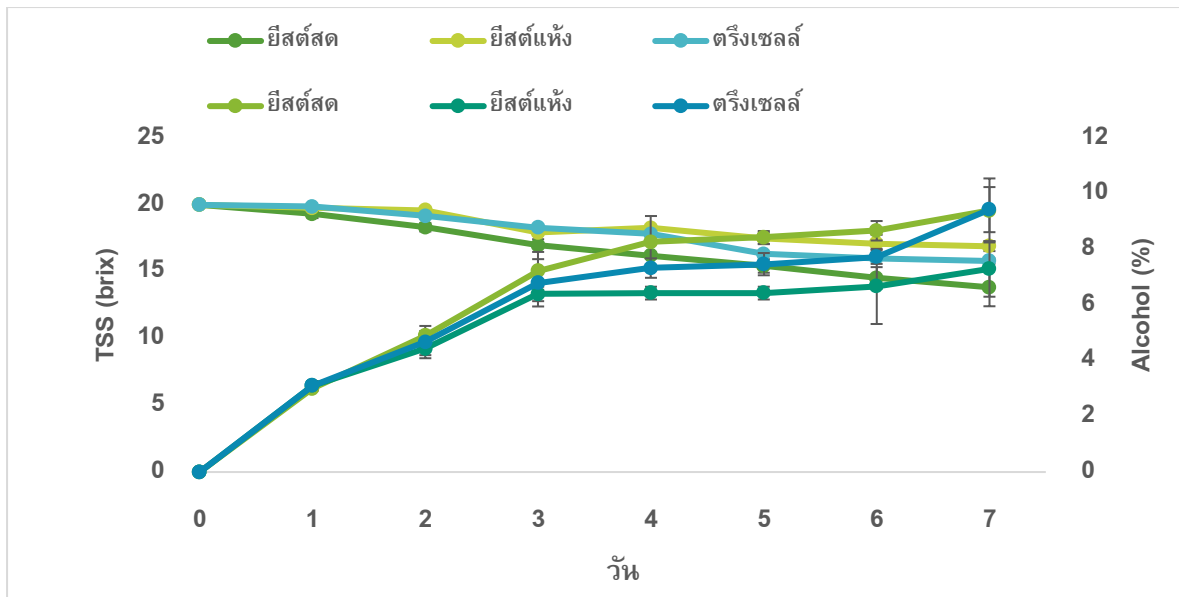
ตารางที่ 2 จำนวนยีสต์ทั้งหมดในไวน์ลำควนที่ใช้อุณหภูมิ 15°C, 25°C และ 30°C หมัก 1 สัปดาห์

| ระยะเวลาการหมัก (วัน) | จำนวนยีสต์ที่นับได้ทั้งหมด (cfu/ml) |                    |                    |
|-----------------------|-------------------------------------|--------------------|--------------------|
|                       | 15°C                                | 25°C               | 30°C               |
| 0                     | $4.3 \times 10^5$                   | $4.7 \times 10^5$  | $4.5 \times 10^5$  |
| 1                     | $2.04 \times 10^6$                  | $1.57 \times 10^6$ | $1.66 \times 10^6$ |
| 2                     | $1.19 \times 10^6$                  | $2.23 \times 10^6$ | $2.31 \times 10^6$ |
| 3                     | $1.50 \times 10^6$                  | $2.05 \times 10^6$ | $1.93 \times 10^6$ |
| 4                     | $1.55 \times 10^6$                  | $2.12 \times 10^6$ | $2.15 \times 10^6$ |
| 5                     | $1.58 \times 10^6$                  | $1.59 \times 10^6$ | $1.52 \times 10^6$ |
| 6                     | $1.02 \times 10^6$                  | $1.50 \times 10^6$ | $3.5 \times 10^5$  |
| 7                     | $3.1 \times 10^5$                   | $6.0 \times 10^5$  | $7 \times 10^4$    |

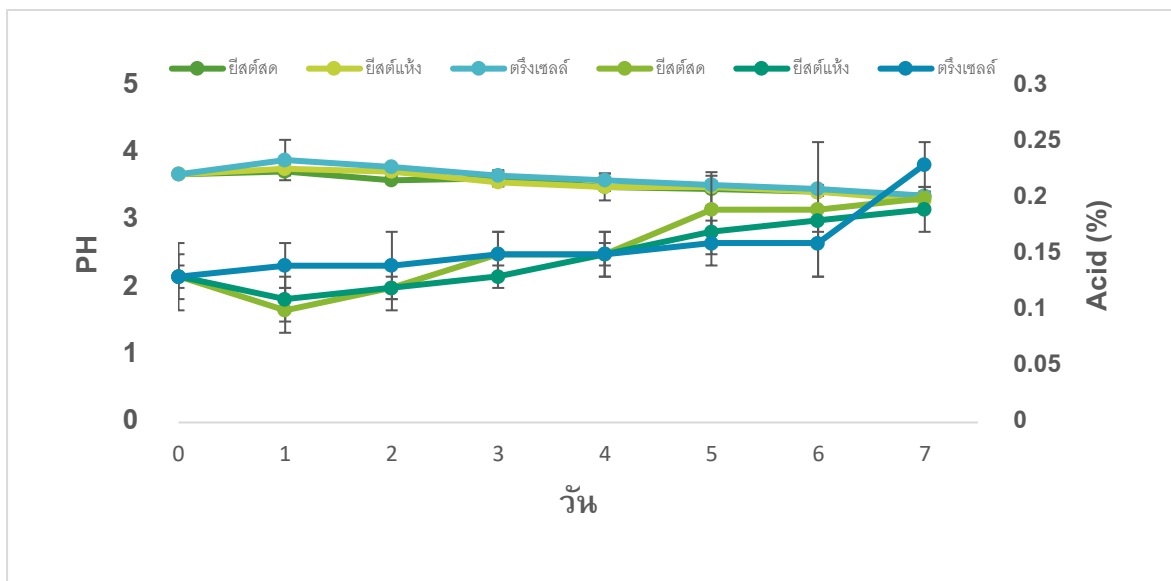
ผลทดลองการใช้รูปแบบแบกกล้าเชื้อที่แตกต่างกัน รูปแบบกล้าเชื้อยีสต์สด ยีสต์แห้ง และแบบการตรึงเซลล์ ที่ระยะเวลาการหมัก 1 สัปดาห์ การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณแอลกอฮอล์ ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณกรดและปริมาณเซลล์ยีสต์ ของไวน์ลำควน พบว่าการใช้กล้าเชื้อทุกแบบ มีผลทำให้แนวโน้มปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในไวน์ลำควนลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยในวันที่ 7 ของการหมัก พบว่าการใช้กล้าเชื้อแบบยีสต์สดมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ที่ลดลงมากที่สุด ปริมาณเท่ากับ 13.83 องศาบริกซ์ ซึ่งค่าปริมาณของแข็งที่ตรวจวัดได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของแข็งในตัวอยางไวน์ลำควนที่ใช้กล้าเชื้อรูปแบบตรึงเซลล์และแบบแห้ง ดังภาพที่ 6 แต่เมื่อตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์นั้น พบว่า การใช้รูปแบบกล้าเชื้อทั้ง 3 แบบ มีผลทำให้เกิดการหมักและได้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น ได้เช่นเดียวกันแต่จะพบว่า การใช้กล้าเชื้อแบบตรึงเซลล์จะมีปริมาณแอลกอฮอล์ที่วัดได้สูงที่สุด เท่ากับ 9.43% ดังรูปที่ 5

ค่าความเป็นกรด-ด่างตลอดระยะเวลาการหมักนั้นมีแนวโน้มลดลงโดยพบว่าวันสุดท้ายของการหมักพบค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ที่ 3.30-3.37 ( $p > 0.05$ ) และปริมาณกรดตลอดระยะเวลาการหมักมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นโดยวันที่ 7 นั้น ปริมาณอยู่ระหว่าง 0.19-0.26% ดังรูปที่ 6





รูปที่ 5 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ลำตวนที่ใช้รูปแบบกล้าเชื้อหมักที่แตกต่างกัน หมัก 1 สัปดาห์



รูปที่ 6 ปริมาณกรดและค่าความเป็นกรด-ด่างในไวน์ลำตวนที่ใช้รูปแบบกล้าเชื้อในการหมักที่แตกต่างกันที่มี หมัก 1 สัปดาห์

การวิเคราะห์จำนวนเซลล์ยีสต์ของไวน์ลำตวนที่มีการใช้รูปแบบกล้าเชื้อที่แตกต่างกันในการหมักไวน์ลำตวน พบว่าระยะเวลาการหมักเวลา 1 วัน จะพบจำนวนยีสต์สูงขึ้นและมากที่สุด โดยเฉพาะกล้าเชื้อยีสต์สด มีจำนวนเซลล์ยีสต์ที่นับได้สูงสุดเท่ากับ  $7.9 \times 10^5$  cfu/ml ดังตารางที่ 3 ส่วนกล้าเชื้อแบบตรึงเซลล์ พบจำนวนเซลล์ยีสต์จะมีการเพิ่มจำนวนแบบช้า ๆ ในช่วงแรก และเพิ่มจำนวนสูงสุดในวันที่ 4 ของการหมัก นับจำนวนยีสต์สูงสุดได้เท่ากับ  $7.5 \times 10^5$  cfu/ml ขณะที่กล้าเชื้อแบบสดและแห้งจำนวนยีสต์ลดลงมากแล้ว และพบว่าเมื่อระยะเวลาการหมัก 7 วัน พบว่ากล้าเชื้อแบบการตรึงเซลล์ในยังคงมีจำนวนเซลล์ยีสต์ที่นับได้มีปริมาณสูงมาก  $4.7 \times 10^5$  cfu/ml ในขณะที่กล้าเชื้อแบบสดและแบบแห้ง จำนวนเซลล์ยีสต์ที่ตรวจได้ลดลงเหลือเท่ากับ  $1.4 \times 10^5$  และ  $8.0 \times 10^4$  cfu/ml ตามลำดับ

ตารางที่ 3 จำนวนยีสต์ที่นับได้ทั้งหมดในวุ้นลำคาน ที่มีการใช้รูปแบบกล้าเชื้อที่แตกต่างกัน หมัก 1 สัปดาห์

| ระยะเวลาการหมัก (วัน) | จำนวนยีสต์ที่นับได้ทั้งหมด (cfu/ml) |                    |                    |
|-----------------------|-------------------------------------|--------------------|--------------------|
|                       | กล้าเชื้อยีสต์สด                    | กล้าเชื้อยีสต์แห้ง | กล้าเชื้อตรึงเซลล์ |
| 0                     | $4.0 \times 10^5$                   | $3.4 \times 10^5$  | $3.9 \times 10^5$  |
| 1                     | $7.9 \times 10^5$                   | $7.5 \times 10^5$  | $5.4 \times 10^5$  |
| 2                     | $6.8 \times 10^5$                   | $8.7 \times 10^5$  | $4.5 \times 10^5$  |
| 3                     | $4.0 \times 10^5$                   | $5.8 \times 10^5$  | $4.2 \times 10^5$  |
| 4                     | $3.7 \times 10^5$                   | $3.2 \times 10^5$  | $7.7 \times 10^5$  |
| 5                     | $1.1 \times 10^5$                   | $1.4 \times 10^5$  | $7.2 \times 10^5$  |
| 6                     | $1.6 \times 10^5$                   | $1.1 \times 10^5$  | $7.4 \times 10^5$  |
| 7                     | $1.4 \times 10^5$                   | $8.0 \times 10^4$  | $4.7 \times 10^5$  |

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ในวุ้นลำคานที่ใช้รูปแบบกล้าเชื้อที่แตกต่างกัน ที่มีระยะเวลาการหมัก 1 สัปดาห์ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ปริมาณแอนโทไซยานิน รวมทั้งการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH ดังตารางที่ 4 พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินในวุ้นลำคานที่ใช้รูปแบบกล้าเชื้อต่างกัน 3 รูปแบบ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณแอนโทไซยานิน อยู่ช่วงระหว่าง 24.01-24.63 mg/ml แต่พบว่าปริมาณของฟีนอลิกในวุ้นลำคานที่หมักโดยใช้กล้าเชื้อสดมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 3.76 mg GAE/ml และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระพบมากที่สุดในวุ้นลำคานที่ใช้รูปแบบกล้าเชื้อยีสต์สดเช่นกัน โดยมีปริมาณค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 80.05 mg/ml

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมในการหมักวุ้นลำคาน คือ ระดับอัตราส่วน ลำคาน:น้ำ คือ 1:2 อุณหภูมิการหมักที่ 25°C และใช้รูปแบบกล้าเชื้อแบบตรึงเซลล์ ซึ่งสภาวะดังกล่าวได้นำไปทดสอบขั้นตอนการหมักวุ้นและนำวุ้นลำคานที่ได้ทดสอบการยอมรับผู้บริโภค

ตารางที่ 4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แอนโทไซยานิน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ วุ้นลำคานที่ใช้รูปแบบกล้าเชื้อที่แตกต่างกัน ระยะการหมัก 1 สัปดาห์

| รูปแบบกล้าเชื้อ | ปริมาณฟีนอลิก (mg GAE/ml) | ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg/L) | DPPH ( $EC_{50}$ , mg/ml) |
|-----------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| ผลลำคานสด       | $14.04 \pm 0.97^a$        | $201.00 \pm 0.10^a$       | $60.27 \pm 1.42^d$        |
| ยีสต์สด         | $3.76 \pm 0.66^c$         | $24.63 \pm 2.02^b$        | $80.05 \pm 0.50^c$        |
| ยีสต์แห้ง       | $2.49 \pm 0.07^c$         | $24.05 \pm 2.06^b$        | $84.72 \pm 0.29^b$        |
| การตรึงเซลล์    | $2.11 \pm 0.32^b$         | $24.01 \pm 0.26^b$        | $89.02 \pm 0.70^a$        |

หมายเหตุ: ค่า <sup>a,b,c</sup> ในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

ผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของไวน์ลำควน ต่อการยอมรับผู้บริโภคที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน โดยมีการทดสอบคุณลักษณะของไวน์ลำควน ด้านความใส ความฝาด ความหวาน กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม ดังตารางที่ 5 จากตารางพบว่าไวน์ที่หมักด้วยกล้าเชื้อแบบผงและกล้าเชื้อแบบตรึงเซลล์ ด้านความใส ความฝาด ความหวาน กลิ่น รสชาติ โดยเฉพาะความชอบโดยรวมพบว่าคะแนนทดสอบความชอบที่ไม่มีความแตกต่างกันจะมีคะแนนความชอบมากกว่าไวน์ที่มีการหมักโดยใช้กล้าเชื้อสด โดยมีคะแนนความชอบรวมในระดับชอบมาก (8.17 และ 8.00)

ตารางที่ 5 คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อการยอมรับของไวน์ลำควนที่หมักโดยใช้รูปแบบกล้าเชื้อต่าง ๆ

| รูปแบบกล้าเชื้อ | คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส |                         |                         |                     |                         | ความชอบโดยรวม          |
|-----------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------|------------------------|
|                 | ความใส                   | ความฝาด                 | ความหวาน                | กลิ่น <sup>ns</sup> | รสชาติ                  |                        |
| ยีสต์สด         | 7.17±1.62 <sup>b</sup>   | 5.80±2.23 <sup>b</sup>  | 6.67±2.04 <sup>b</sup>  | 6.93±1.82           | 7.13±1.57 <sup>b</sup>  | 7.47±1.14 <sup>b</sup> |
| ยีสต์แห้ง       | 7.77±0.94 <sup>a</sup>   | 6.47±1.89 <sup>ab</sup> | 7.87±1.33 <sup>a</sup>  | 7.47±1.48           | 7.83±0.69 <sup>a</sup>  | 8.17±0.07 <sup>a</sup> |
| การตรึงเซลล์    | 7.40±1.07 <sup>ab</sup>  | 6.83±1.66 <sup>a</sup>  | 7.43±1.45 <sup>ab</sup> | 7.33±1.35           | 7.33±1.42 <sup>ab</sup> | 8.00±0.98 <sup>a</sup> |

หมายเหตุ: ค่า <sup>a,b,c</sup> ในแนวตั้งแสดงถึงค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

<sup>ns</sup> – Not-significant หมายถึง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

## การอภิปรายผล

จากการทดลองนั้นจะเห็นได้ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของทุกตัวอย่างนั้นมีแนวโน้มลดลง ซึ่งการลดลงของปริมาณของแข็งที่ลดลง นั้นจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณของแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่ายีสต์สามารถเจริญได้ดีในลำควนสัมพันธ์กับจำนวนของยีสต์ที่ตรวจนับได้ มีจำนวนเพิ่มเมื่อมีระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ซึ่งการเจริญของยีสต์เกิดจากยีสต์ใช้น้ำตาลเพื่อเปลี่ยนเป็นพลังงานและได้ผลิตภัณฑ์เป็นให้เป็นเอทานอล โดยทั่วไปประมาณ 95% ของน้ำตาลทั้งหมด ถูกนำไปผลิตเป็นเอทานอล และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในขณะที่น้ำตาลที่เหลือ 5% ถูกเปลี่ยนผลิตภัณฑ์อื่น ๆ เช่น กลีเซอรอล (Tatdao et al., 2013) นอกจากนี้ยังพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างไวน์เริ่มต้นใกล้เคียงกัน (3.58-3.71) ซึ่งหลังจากการหมักเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ลดลงเล็กน้อยเป็น 3.30-3.50 การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่สังเกตได้อาจเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นซึ่งนำไปสู่การก่อตัวของ  $H^+$  และการก่อตัวของกรดคาร์บอนิกจากปฏิกิริยาของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ (Romano et al., 1998) ซึ่งสอดคล้องกับ Bindon et al. (2013) จากรายงานพบว่าไวน์องุ่นมีปริมาณแอลกอฮอล์ 11.77-15.5% และค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3.46-3.62 อย่างไรก็ตามผลลัพธ์ที่แตกต่างกันในการศึกษาอาจเนื่องมาจากความเป็นกรดและปริมาณเอทานอลของไวน์นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการรวมถึงชนิดของผลไม้ ชนิดของยีสต์ที่ใช้ การเริ่มต้นของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และวิธีการผลิตไวน์

ผลของการใช้รูปแบบกล้าเชื้อแบบสด แบบแห้ง และการตรึงเซลล์มีผลต่อการหมักไวน์ ที่แตกต่างกันซึ่งจากผลการใช้กล้าเชื้อแบบสดและกล้าเชื้อแบบแห้ง ซึ่งเห็นได้ว่าการหมักของไวน์ลำควนจะเป็นไปได้เร็วกว่าการใช้กล้าเชื้อแบบตรึงเซลล์ ซึ่งเห็นได้จากปริมาณของแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และปริมาณค่าของของแข็งที่ละลายน้ำก็ลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยมีปริมาณที่สูงสุดเท่ากับ  $9.40 \pm 1.15$  และ  $9.43 \pm 0.81$  เปอร์เซ็นต์ แต่ในขณะที่การใช้กล้าเชื้อแบบตรึงเซลล์พบปริมาณแอลกอฮอล์ที่น้อยกว่าซึ่งมีค่า เท่ากับ  $7.30 \pm 1.00$  % ซึ่งผลของตรึงเซลล์พบว่าเมื่อทำให้เซลล์ถูกตรึงแบบมั่นคงแข็งแรงกับ

วัสดุ ผลทำให้การเกิดกิจกรรมกระบวนการหมักแรกช้าลง และรุนแรงน้อยกว่าในช่วงแรก เมื่อเทียบกับกระบวนการที่ใช้เซลล์ยีสต์แบบอิสระ อย่างไรก็ตามเมื่อเซลล์ยีสต์สามารถปรับตัวได้ ก็จะสามารถเกิดกิจกรรม การหมักได้เร็วขึ้น อีกทั้งนี้ผลจากการหมักพบว่า มีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นมากขึ้น ซึ่งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ก็อาจมีผลในการทำลายโครงสร้างของแอลจินेटซึ่งจะทำให้เซลล์ที่ถูกต้องไว้ ถูกปลดปล่อยออกมาเป็นอิสระเพิ่มมากขึ้น มีผลทำให้การเกิดกิจกรรมการหมักเพิ่มขึ้น และต่อเนื่อง (Kregiel et al., 2013) ซึ่งเห็นได้ว่าการหมักโดยใช้ล้าเชื้อแบบตรึงเซลล์ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการหมักช่วงแรกเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ โดย Berbegal et al. (2019) รายงานว่าการหมักไวน์โดยทั่วไปจะมีช่วงระยะเวลาการหมัก 2 ช่วงโดยช่วงแรกยีสต์ใช้น้ำตาลและเกิดแอลกอฮอล์เป็นส่วนใหญ่ และต่อจากนั้นก็เป็นการหมักในขั้นตอนที่ 2 โดยยีสต์จะย่อยและหมักองค์ประกอบในผลไม้เพื่อให้ได้กลิ่นและรสชาติซึ่งมีผลต่อคุณภาพ ซึ่งมีการใช้เซลล์ที่มีการตรึงเซลล์ มีทำให้การหมักเกิดได้ช้ากว่าการเซลล์อิสระ แต่จะผลดีต่อคุณภาพไวน์เนื่องจากยีสต์สามารถหมักและย่อยสลายสารที่เป็นสารประกอบประเภทหอมระเหย ได้แก่ เอสเทอร์ กรด แอลกอฮอล์ อัลดีไฮด์ และ แลคโตน ซึ่งจะส่งผลให้ไวน์มีกลิ่นหอมแลรสชาติที่ดี ดังนั้น กล้าแบบตรึงเซลล์จึงไม่เหมาะสมที่ใช้หมักไวน์ลำดวนในช่วงแรกแต่มีความสำคัญและมีประโยชน์ถ้านำมาใช้กับการหมักไวน์ในช่วงที่ 2 ซึ่งจะเป็นการหมักแบบช้าๆ และปลดปล่อยสารให้กลิ่นรส รวมทั้งสารสำคัญที่เป็นสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่างๆ ออกมาได้เต็มประสิทธิภาพและให้ไวน์ลำดวนเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค อีกทั้งยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพ

## บทสรุป

การศึกษาสภาวะในการหมักไวน์ลำดวนให้ได้คุณภาพ มีปัจจัยที่ต้องควบคุมหลายปัจจัย ได้แก่ปัจจัยสารอาหารในผลลำดวน การเตรียมน้ำลำดวนให้มีสารอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญของยีสต์ อุณหภูมิที่ 25°C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของยีสต์ซึ่งจะทำให้เกิดการหมักและได้แอลกอฮอล์สูงและสามารถควบคุมให้เซลล์รอดชีวิตได้มาก การใช้อัลลาแบบดั้งเดิม คือ กล้าเชื้อผงและกล้าเชื้อแบบสด มีความเหมาะสมกว่าการใช้อัลลาเชื้อที่ตรึงเซลล์ในการหมักไวน์ลำดวนเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์ปริมาณสูง แต่ในขณะเดียวกันการใช้อัลลาเชื้อแบบตรึงเซลล์ สามารถช่วยให้กล้าเชื้อรอดชีวิตได้จำนวนมาก และสามารถนำรูปแบบกล้าเชื้อแบบตรึงเซลล์ไปใช้หมักไวน์ดวนและนำไปใช้ในช่วงการหมักช่วงที่สองหรือเรียกว่าช่วงบ่มไวน์ลำดวน ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและคุณภาพไวน์ได้ เนื่องจากการตรึงเซลล์สามารถป้องกันไม่เซลล์ถูกทำลายด้วยแอลกอฮอล์ที่เกิดจากการหมัก ทำให้ไวน์เกิดการหมักแบบช้า ๆ และ มีผลต่อคุณภาพของไวน์โดยเฉพาะกลิ่นรสของไวน์ที่ได้มีความนุ่มนวลเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค นอกจากนี้การใช้อัลลาเชื้อแบบตรึงเซลล์ยังสามารถนำกล้าเชื้อในรูปแบบเม็ดบีดที่ผ่านการใช้หมักไวน์แล้วกลับมาใช้ได้อีก ซึ่งสามารถทำให้ลดขั้นตอนการเตรียมกล้าเชื้อและลดต้นทุนในการผลิตไวน์ได้ จึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจนำไปใช้ในการผลิตไวน์

## เอกสารอ้างอิง

- พนิตตา ปัญญาติก, เรืองศักดิ์ อยู่ชา และเพ็ญธนา สมานพันธ์. (2558). คู่มือความรู้เรื่องกระบวนการหมักไวน์. ส่วนการศึกษาโรงเรียนนายร้อยพระจุลจอมเกล้า. นครนายก.
- ศศิธร คงเรือง. (2550). การตรึงเซลล์โดยการห่อหุ้มเพื่อผลิตไวน์ลำไยอบแห้ง. รายงานการวิจัย. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพฯ.
- Association of Official Analysis Chemists (AOAC). (2000). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18<sup>th</sup> Edited. Gaithersburg, MD: USA.

- Association of Official Analysis Chemists (AOAC). (2005). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14<sup>th</sup> Edited. Washington, DC: USA.
- Bindon K., Varela C., Kennedy J., Holt H. and Herderich M. (2013). Relationships Between harvests time & wine composition in *Vitis vinifera* L. CV. Cabernet Sauvignon 1. grape & wine chemistry. Food Chemistry. 138: 1696–1705.
- Berbegala C., Poloa L., García-Esparzab M.J., Lizamab V., Ferrera S. and Pardo I. (2019). Immobilisation of yeasts on oak chips or cellulose powder for use in bottle fermented sparkling wine. Food Microbiology. 78: 25-37.
- Genisheva Z., Mussatto S., Oliveira M. and Teixeira A. (2011). Evaluating the potential of wine-making residues and corn cobs as support materials for cell immobilization for ethanol production. Industrial Crops and Products. 34: 979–985.
- Jacques K.A., Lyons T.P. and Kelisall D.R. (2003). The alcohol textbook. Nottingham: Nottingham University Press: UK.
- Karunrat S., Abdullah D., Aydin S.B. and Izabela K. (2018). Phytochemical composition and health enhancing properties of *Oryza sativa* L. leaf tea. Integrative Food. Nutrition and Metabolism. 5(6): 1-11.
- Kregiel D., Berlowska J. and Ambroziak W. (2013). Growth and metabolic activity of conventional and non-conventional yeasts immobilized in foamed alginate. Enzyme and Microbial Technology. 53: 229-234.
- Lerma N.L., Peinado R.A., Puig-Pujol A., Juan C. Moreno M.J. and García-Martínez T. (2018). Influence of two yeast strains in free, bio immobilized or immobilized with alginate forms on the aromatic profile of long aged sparkling wines. Food Chemistry. 250: 22-29.
- Vine R.P., Harkness E.M., Browning T. and Wagner C. (1997). Winemaking: from grape to marketplace. Chapman & Hall: NY.