แบบสรุปผู้บริหาร

[Executive Summary]

เรื่อง การคัดเลือกยีสต์และพารามิเตอร์การหมักที่เพิ่มศักยภาพกระบวนการผลิตสารต่อต้านอนุมูลอิสระ และสารให้กลิ่นที่ดีในไวน์เม่า (*Antidesma thwaitesanum* Müell.)

Selection of Commercial Yeasts, and Fermentation Parameters in Mao (*Antidesma thwaitesanum* Müell.) Wine, to Increase Potential of Production, Antioxidant and Volatile Aroma Compounds

คณะผู้วิจัย

1. ผศ.ดร.วันเพ็ญ จิตรเจริญ
2. นางสาวธัญลักษณ์ บัวผัน
3. นางสาวลชินี ปานใจ

หน่วยงานที่สังกัด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง ต.พิชัย อ.เมือง จ.ลำปาง
โทร 054 342 547-8 ต่อ 188 โทรสาร 054 342 549

งบประมาณ ประจำปี 2554
งบประมาณ 1,686,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 20 พฤษภาคม 2554 ถึง 19 พฤษภาคม 2555

สรุปโครงการ

เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในประเทศไทยมีมูลค่าทางการตลาดสูงกว่า 100,000 ล้านบาท โดยในปี 2554 ประกอบด้วยสุรา (รวมถึงไวน์) เป็นมูลค่า 48,625 ล้านบาท (กรมสรรพสามิต, 2554) และจากข้อมูลมูลค่าการนำเข้าและส่งออกไวน์จากต่างประเทศประมาณ 157 และ 89 ล้านบาท ตามลำดับ (กรมศุลกากร, 2554) ชี้ให้เห็นว่าอุตสาหกรรมไวน์ผลไม้ไทยมีโอกาสที่จะเข้าไปมีส่วนแบ่งการตลาดเครื่องดื่มแอลกอฮอล์อีกมาก โดยเฉพาะไวน์เม่าที่มีความโดดเด่นจากความมีเอกลักษณ์เฉพาะตัวคุณสมบัติด้านสารต้านอนุมูลอิสระ และกำลังการผลิตผลเม่าแต่ละปีที่มีสูงถึง 300- 400 ตัน แต่จาก

รายงานวิจัยการสำรวจข้อมูลพื้นฐานของไวน์เม่าที่ผลิตเชิงพาณิชย์จำนวน 13 ยี่ห้อในประเทศไทย (วันเพ็ญ สายรุ้งและอัญชลี, 2551) พบว่า ร้อยละ 92 ยังมีสารกลุ่มคาร์บอนิลสูงกว่ามาตรฐานทำให้ไวน์มีกลิ่นเหม็นอับและคุณภาพต่ำ ชี้ให้เห็นว่าผ่านกระบวนการหมักที่ไม่มีประสิทธิภาพ

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกยีสต์และพารามิเตอร์การหมักที่เพิ่มศักยภาพกระบวนการผลิต สารต่อต้านอนุมูลอิสระ และสารให้กลิ่นรสที่ดีในไวน์เม่า ประกอบด้วย การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และปริมาณแอมโมเนียมฟอสเฟต ทำการควบคุมพารามิเตอร์การหมัก และตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ นำผลที่ได้มาประเมินร่วมกันโดยมีตัวชี้วัดที่สำคัญ ได้แก่ มีพารามิเตอร์การหมักที่ดี มีสารประกอบกลุ่มคาร์บอนิลต่ำ มีสารต่อต้านอนุมูลอิสระและการยอมรับทางประสาทสัมผัสสูง ทำการพัฒนาคำศัพท์เฉพาะของคุณลักษณะด้านกลิ่นของไวน์เม่าในรูปแบบของวงล้อกลิ่น (Aroma wheel)

ผลการศึกษาสามารถสรุปกระบวนการผลิตไวน์เม่าที่มีศักยภาพในเชิงพาณิชย์เบื้องต้นได้ดังนี้ เตรียมน้ำเม่าจากพันธุ์ฟ้าประทานโดยคัดเลือกผลเม่าเฉพาะที่มีสีแดงดำมาคั้นน้ำเม่าด้วยเครื่องคั้นแบบบีบอัด ปรับน้ำเม่าให้มีปริมาณกรดทั้งหมด 3.7 กรัม/ลิตร และน้ำตาล 200 กรัม/ลิตร เติมไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ 0.6 มิลลิกรัม/ลิตร ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 30 มิลลิกรัม/ลิตร ยีสต์สายพันธุ์ GHM ร้อยละ 0.03 และแอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร ทำการหมักที่อุณหภูมิ 20 °ซ จนกระทั่งยีสต์ยุติการหมัก แล้วจึงเติมมาโลแลคติกแบคทีเรียสายพันธุ์ Ellios1 จนกระทั่งแบคทีเรียยุติการหมัก ปรับไวน์ให้มีปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระ 30 มิลลิกรัม/ลิตร ไวน์เม่ามีองค์ประกอบทางเคมีอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน โดยมีอัตราการหมักที่เหมาะสม มีการสร้างสารประกอบคาร์บอนิลต่ำ มีปริมาณแอนโธไซยานิน ปริมาณสารประกอบฟีนอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำหมัก ไวน์ประกอบด้วยอนุพันธ์แอนโธไซยานินจำนวน 15 ชนิด มีอนุพันธ์หลักคือ Cyanidin และ Peonidin ปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมด 37.53 มิลลิกรัม/ลิตร สารประกอบฟีนอล 92.42 มก.GAE/ลิตร และฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระ 1248.18 มิลลิกรัมTEAC/ลิตร พบสารให้กลิ่นระเหยที่สำคัญ ได้แก่ Acetic acid 2, and 3-methylbutyl ester, Acetic acid 2-phenylethyl ester, Butanoic acid ethyl ester, Hexanoic acid ethyl ester, Limonene, Beta.-myrcene, Beta.-linalool, Farnesyl alcohol, 2, and 3-Methyl-l butanol, และ Phenethyl alcohol เป็นต้น ผู้บริโภคให้การยอมรับไวน์เม่าตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างไวน์องุ่นเชิงพาณิชย์อยู่ในระดับดีเยี่ยม และหลังจากทราบข้อมูลเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในไวน์เม่าแล้ว มีผู้บริโภคจำนวนมากขึ้นที่อยากซื้อไวน์เม่าถึงร้อยละ 78

ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบเชิงพรรณนาของไวน์เม่า พบว่ามีคุณลักษณะกลิ่นจำนวน 29 คุณลักษณะ กลิ่นที่มีความเข้มสูงคือ กลิ่นเม่า กลิ่นมะขามเปียก กลิ่นกระเจี๊ยบ และกลิ่นพรุน สามารถสร้าง Aroma wheel ต้นแบบ โดยจำแนกเป็น 6 กลุ่มหลัก คือ กลิ่นผลไม้ กลิ่นผัก กลิ่นสมุนไพร กลิ่นคาราเมล กลิ่นดอกไม้ และกลิ่นไม่พึงประสงค์ ซึ่งเป็นคุณลักษณะ

ที่ใช้แสดงเอกลักษณ์ของไวน์เม่า และยังสามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพกระบวนการผลิตไวน์ร่วมกับผลการตรวจสอบทางเคมี

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย คือ ผู้ผลิตสามารถนำกระบวนการผลิตไปใช้เป็นต้นแบบในการผลิตไวน์เม่าระดับอุตสาหกรรม เพื่อให้ได้ไวน์เม่าที่มีคุณภาพมาตรฐานสากลทั้งในเชิงคุณภาพทางเคมี ทางประสาทสัมผัส และประโยชน์เชิงสุขภาพจากสารต้านอนุมูลอิสระและการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ ผู้ผลิตสามารถนำ Aroma wheel ไปใช้เป็นต้นแบบในการทดสอบหาคุณภาพกลิ่นต่าง ๆ ที่พบในไวน์เม่า เพื่อการปรับปรุงหรือแก้ปัญหาที่อาจเกิดขึ้นในกระบวนการผลิต และยังใช้เป็นอุปกรณ์สำหรับฝึกฝนความเชี่ยวชาญด้านกลิ่นนานาชนิดที่อาจพบในไวน์เม่าให้แก่นักวิชาการ และเจ้าหน้าที่หรือไวน์เมกเกอร์ประจำโรงงาน ใช้ในการสร้างความเข้าใจและความประทับใจถึงความซับซ้อนด้านคุณภาพกลิ่นให้แก่ผู้บริโภคด้วย ผู้ผลิตสามารถนำคุณลักษณะด้านกลิ่นเป็นต้นแบบจัดทำคำพรรณนาบนฉลากของขวดไวน์ในเชิงพาณิชย์ เพื่อเป็นการสร้างแรงจูงใจและโน้มน้าวให้ผู้บริโภคได้ตระหนักถึงอรรถรสของไวน์เม่าที่บรรจุอยู่ในขวดและอยากจะซื้อมาบริโภค นอกจากนี้ยังใช้เป็นแนวทางการวิจัยเชิงลึกเพื่อพัฒนาอุตสาหกรรมไวน์เม่าให้มีความเข้มแข็งสู่สากลและแข่งขันในตลาดโลกได้อย่างน่าภาคภูมิใจ

xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

บทคัดย่อ

งานวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และพารามิเตอร์การหมักที่เหมาะสม และไวน์เม่ามีสารต่อต้านอนุมูลอิสระและสารให้กลิ่นที่ดี ผลการศึกษาดังนี้ น้ำเม่าประกอบด้วย กลูโคส 81.1 g/L, ฟรุคโตส 76.4 g/L กรดอินทรีย์หลักคือซิตริค 8.24 g/L ทาร์ทาริค 3.0 g/L และมาลิค 0.8 g/L ปรับน้ำหมักให้มีปริมาณกรด 3 g/L และน้ำตาล 200 g/L หมักที่ 20 °ซ ศึกษาความสัมพันธ์ของสายพันธุ์ยีสต์ 3 ชนิด คือ Rhöne2323, GHM, และ V1116 และแอมโมเนียมฟอสเฟต (DAP) 2 ระดับ คือ 300 และ 500 mg/L พบว่า การใช้ยีสต์ Rhöne2323 vs. DAP 300, และ 500 mg/L และการใช้ยีสต์ GHM vs. DAP 500 mg/L สร้างสารกลุ่มคาร์บอนิลต่ำ (Sulfur binding capacity) คือ 35-59 mg/L จึงนำทั้ง 3 สิ่งทดลองไปหมักต่อแบบมาโลแลคติกด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ Ellios1 ที่อุณหภูมิ 20 °ซ พบว่า สามารถลดปริมาณกรดได้ 1.26-1.47 กรัม/ลิตร ตรวจสอบสารประกอบให้กลิ่นของไวน์เม่าด้วย GC-MS พบจำนวน 55 ชนิด ที่สำคัญ ได้แก่ Acetic acid 2, and 3-Methylbutyl ester, Acetic acid 2-Phenylethyl ester, Butanoic acid ethyl ester, Hexanoic acid ethyl ester, Limonene, Beta.-myrcene, Beta.-linalool, Farnesyl alcohol, 2, and 3-Methyl-l butanol และ Phenethyl alcohol

ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธีเชิงพรรณนา พบคุณลักษณะด้านกลิ่นจำนวน 29 ชนิด โดยกลิ่นที่มีความเข้มสูง คือ กลิ่นเม่า กลิ่นมะขามเปียก กลิ่นกระเจี๊ยบ และกลิ่นพรุน นำมาสร้างเป็นวงล้อกลิ่นเฉพาะของไวน์เม่าได้ 6 กลุ่ม คือ กลิ่นผลไม้ กลิ่นผัก กลิ่นสมุนไพร กลิ่นคาราเมล กลิ่นดอกไม้ และกลิ่นไม่พึงประสงค์ ไวน์เม่ามีองค์ประกอบทางเคมีคืออนุพันธ์แอนโธไซยานินจำนวน 12-15 ชนิด อนุพันธ์หลักคือไซยานิดิน และพิทูนิดีน สารประกอบฟีนอล 88–93 mgGAE/L แอนโธไซยานิน 33-38 mg/L ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ1200-1261 mg/L โดยพบสูงสุดในไวน์ที่ใช้ยีสต์สายพันธุ์ GHM vs. DAP 500 mg/L ซึ่งได้รับคะแนนทางประสาทสัมผัสทุกด้านอยู่ในเกณฑ์ดี จึงคัดเลือกไปทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคเปรียบเทียบกับตัวอย่างไวน์องุ่นเชิงพาณิชย์ โดยการประเมินในศูนย์ประเมินกลางชุมชน พบว่า ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสทุกด้านในระดับดีเยี่ยม และให้การยอมรับไวน์เม่าและไวน์องุ่นร้อยละ 92 และ 86 ตามลำดับ และการรับทราบข้อมูลเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในไวน์เม่าทำให้มีผู้บริโภคต้องการซื้อไวน์เม่าเพิ่มขึ้นจากเดิมร้อยละ 68 เป็นร้อยละ 78

คำสำคัญ: เม่า, ไวน์เม่า, สายพันธุ์ยีสต์, กรดอินทรีย์, น้ำหมัก, แอมโมเนียมฟอสเฟต, สารประกอบคาร์บอนิล, ความสามารถจับกับสารประกอบซัลเฟอร์, สารให้กลิ่นระเหย, อนุพันธ์แอนโธไซยานิน, แอนโธไซยานิน, ฟีนอล, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, วงล้อกลิ่น

ABSTRACT

The purpose of the study was to select industrial yeast strains and fermentation conditions, in mao wine, to increase antioxidant and volatile aroma compounds. The optimal enological parameters were studied. Mao juice for the base wine contained 81.10 g/L glucose and 76.4 g/L fructose. The main organic acids were 8.24 g/L citric acid, 3.0 g/L tartaric acid, and 0.8 g/L malic acid. The must was added to 3.7 g/L total acidity, 200 g/L sugar content, and fermented at 20 °C. The must was fermented by three different yeast strains (Rhöne2323, GHM, และ V1116), and two different levels of ammonium phosphate (DAP; 300, and 500 mg/L). The yeast Rhöne2323 vs. DAP 300, and 500 mg/L, and yeast GHM vs. DAP 500 mg/L produced less sulfur binding capacity at 35-59 mg/L. The three wines were further fermented with Malolactic bacteria strain Ellios1 at 20 °C. The acidity of the wine samples decreased at 1.26-1.47 g/L. The 55 prominent aroma components of wine samples were determined by using GC-MSD in the form of peak area contributions, including Acetic acid 2, and 3-Methylbutyl ester, Acetic acid 2-Phenylethyl ester, Butanoic acid ethyl ester, Hexanoic acid ethyl ester, Limonene, Beta.-myrcene, Beta.-linalool, Farnesyl alcohol, 2, and 3-Methyl-l butanol and Phenethyl alcohol. The 29 aroma characteristics were evaluated by descriptive analysis, and intensified into maoberry, ripened tamarind, roselle, and prune aroma attributes. The aroma wheel of mao wine was invented, and divided the aroma into 6 groups; fruity, vegetable, herbal, caramel, floral, and faulty. The wine samples consisted of 12-15 anthocyanin derivatives, and the main was cyanidin and peonidin, 33-38 mg/L total anthocyanin content, 88–93 mgGAE/L phenol content, 1200-1261 mg/L antioxidant activity, and good sensory assessment. The comparison of the mao wine produced from yeast GHM vs. DAP 500 mg/L and commercial grape wine were evaluated by central location test. Both wines were accepted in excellent levels at 92% and 86%. After knowing about the antioxidant value in mao wine, its sales increased by 68% to 78%.

Key words: mao, mao wine, yeast strain, organic acid, must, ammonium phosphate, carbonyl compounds, sulfur binding capacity, volatile aroma compound, anthocyanin derivatives, anthocyanin, phenol, antioxidant activity, aroma wheel

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในประเทศไทยมีมูลค่าทางการตลาดสูงกว่า 100,000 ล้านบาท โดยในปี 2554 ประกอบด้วยสุรา (รวมถึงไวน์) เป็นมูลค่า 48,625 ล้านบาท (กรมสรรพสามิต, 2554) และจากข้อมูลมูลค่าการนำเข้าและส่งออกไวน์จากต่างประเทศประมาณ 157 และ 89 ล้านบาท ตามลำดับ (กรมศุลกากร, 2554) ชี้ให้เห็นว่าอุตสาหกรรมไวน์ผลไม้ไทยมีโอกาสที่จะเข้าไปมีส่วนแบ่งการตลาดเครื่องดื่มแอลกอฮอล์อีกมาก โดยไวน์ผลไม้จากอุตสาหกรรมในประเทศไทยเริ่มเป็นที่รู้จักอย่างกว้างขวางมากขึ้นและเริ่มทดแทนการดื่มไวน์องุ่นทั้งในและต่างประเทศมาตั้งแต่ พ.ศ. 2544 ไวน์เม่าผลิตจากผลเม่าหรือมะเม่า และนับว่ามีความโดดเด่นจากความมีเอกลักษณ์เฉพาะตัวทั้งสีสรรและกลิ่นรสคล้ายไวน์องุ่นแดง และยังพบว่าผลเม่ามีสารต่อต้านอนุมูลอิสระสูง จึงทำให้ผู้รักสุขภาพให้ความสนใจบริโภคผลิตภัณฑ์ที่ทำจากผลมะเม่าเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้เกษตรกรหันมาปลูกต้นมะเม่าและรวมกลุ่มกันผลิตผลิตภัณฑ์จากเม่ามากขึ้น เช่น กลุ่มชมรมหมากเม่าสกลนครที่มีผู้ประกอบการเป็นสมาชิกไม่น้อยกว่า 40 ราย สมาชิกกลุ่มเกษตรกรสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตที่มีคุณภาพได้เฉลี่ย 120 ตันต่อปี และนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ตามความต้องการของตลาดผู้บริโภคไวน์เม่าถึงร้อยละ 20 จำหน่ายได้ราคาดี (200-450 บาทต่อขวด) และผลิตเพิ่มมากขึ้นและบางปีสูงถึงประมาณ 300-400 ตัน จากความต่อเนื่องด้านการเพิ่มผลผลิตของภาคเกษตรกรและการผลิตไวน์ และการสนับสนุนอย่างเข้มแข็งจากภาครัฐบาลและนักวิชาการ จึงทำให้ไวน์เม่ากลายเป็นผลิตภัณฑ์เอกลักษณ์หนึ่งที่น่าภาคภูมิใจของภาคตะวันออกเฉียงเหนือและแสดงถึงนวัตกรรมใหม่ของภูมิปัญญาท้องถิ่น แต่จากรายงานวิจัยการสำรวจข้อมูลพื้นฐานของไวน์เม่าที่ผลิตเชิงพาณิชย์จำนวน 13 ยี่ห้อในประเทศไทย (วันเพ็ญ สายรุ้งและอัญชลี, 2551) พบว่า ร้อยละ 92 ยังมีสารกลุ่มคาร์บอนิลสูงกว่ามาตรฐานทำให้ไวน์มีกลิ่นเหม็นอับและคุณภาพต่ำ ชี้ให้เห็นว่าผ่านกระบวนการหมักที่ไม่มีประสิทธิภาพ

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตไวน์เม่าให้มีคุณภาพได้มาตรฐานสากล โดยใช้วิธีการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ และศึกษาสภาวะการหมักแวดล้อมของการหมักที่มีความเหมาะสมทำให้เกิดการหมักได้อย่างสมบูรณ์ สร้างสารให้กลิ่นรสที่ดี และมีสารต้านอนุมูลอิสระสูง เพื่อเป็นการเพิ่มศักยภาพของอุตสาหกรรมไวน์เม่า และสามารถพัฒนาเป็นสินค้าส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศต่อไป โดยได้รับงบประมาณประจำปี 2551 จากสำนักงานคณะกรรมวิจัยแห่งชาติ เป็นเฟสที่ 1 สนับสนุนให้ทำการวิจัยการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ ปริมาณแอมโมเนียมฟอสเฟต มีอัตราการหมักที่เหมาะสม และสร้างสารกลุ่มคาร์บอนิลต่ำ และต่อเนื่องเป็นเฟสที่ 2 ในงบประมาณประจำปี 2554 เพื่อทำการประเมินชนิดสารให้กลิ่นรสที่เป็นเอกลักษณ์เด่นของไวน์เม่าที่ถูกสร้างขึ้นระหว่างการหมัก ตรวจหาปริมาณสารต่อต้านอนุมูลอิสระเพื่อประโยชน์เชิงสุขภาพของผู้บริโภค และทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค ผลการวิจัยจะมีประโยชน์โดยตรงต่อผู้บริโภคได้ดื่มไวน์ที่มีคุณภาพสูง และผู้ประกอบการไวน์เม่าสามารถผลิตไวน์ได้คุณภาพตามมาตรฐาน เป็นการเพิ่มศักยภาพเพื่อให้

สามารถเพิ่มส่วนแบ่งการตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ ตลอดจนเป็นฐานข้อมูลเพื่อพัฒนากระบวนการผลิตไวน์เม่าในเชิงลึกต่อไป

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และสภาวะแวดล้อมการหมักไวน์เม่าที่ทำให้เกิดพารามิเตอร์การหมักที่ดีมีประสิทธิภาพ

2. เพื่อตรวจสอบคุณภาพทางเคมีและกายภาพ ชนิดสารให้กลิ่นรส ปริมาณสารต่อต้านอนุมูลอิสระ และการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของไวน์เม่า

3.ระเบียบวิธีวิจัย

ตอนที่ 1 ศึกษากระบวนการผลิตที่เหมาะสมของไวน์เม่า

1.1) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของน้ำเม่า

คัดเลือกผลเม่า (*Antiderma thwaitesanum* Müell.) พันธุ์ฟ้าประทานที่มีผลสีแดงดำ มาคั้นน้ำเม่า (ดัดแปลงจาก Jitjaroen, 2007) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพ เพื่อใช้เป็นหลักในการปรับความสมดุลของน้ำเม่าก่อนเริ่มการหมักดังนี้ ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโทสและซูโครส และกรดอินทรีย์ทั้งหมด และค่าความเข้มสี (Agilent technology, 2007; Bruce *et al*., 1995)

1.2) ศึกษาสายพันธุ์ยีสต์และปริมาณแอมโมเนียมฟอสเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิตไวน์เม่า

ศึกษาสายพันธุ์ยีสต์จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ GHM, Rhöne2323, V1116 และปริมาณแอมโมเนียมฟอสเฟต 2 ระดับคือ 300 และ 500 มิลลิกรัม/ลิตร โดยการปรับน้ำหมักให้มีปริมาณกรดเป็น 3 กรัม/ลิตร และน้ำตาล 200 กรัม/ลิตร เติมไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ 0.6 มิลลิกรัม/ลิตร ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 30 มิลลิกรัม/ลิตร แอมโมเนียมฟอสเฟต และยีสต์ร้อยละ 0.03 บ่มที่อุณหภูมิ 20 ^{o}ซ จนกระทั่งยุติการหมัก ปรับไวน์ให้มีปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระ 30 มิลลิกรัม/ลิตร ทำการควบคุมคุณภาพระหว่างการหมักโดยการตรวจวัดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทุกวัน และวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพผลิตภัณฑ์ ดังนี้ พีเอช กรดทั้งหมด แอลกอฮอล์ น้ำตาลกลูโคส ฟรุกโทสและซูโครส ปริมาณกรดอินทรีย์ ค่าความเข้มสี สารประกอบคาร์บอนิล และซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระ (Agilent, 2007; Amerine and Ough, 1985; Bruce *et al*., 1995; Boehringer Mannheim, 1989)) วางแผนการทดลองแบบ Completed Randomized Design (CRD) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan New Multiple Range Test (DMRT) (α=0.01) และคัดเลือกตัวอย่างไวน์เม่าที่มีค่า Sulphur binding capacity ต่ำ (ผลการศึกษาได้ทำการคัดเลือกไวน์เม่าตัวอย่าง จำนวน 3 สิ่งทดลองไปศึกษาในหัวข้อ 1.3 ต่อไป)

1.3) ศึกษาการทำมาโลแลคติกและคุณภาพของไวน์เม่า

เตรียมน้ำเม่าและหมักร่วมกับกาก ปรับปริมาณกรดทั้งหมดเป็น 3.7 กรัม/ลิตร และน้ำตาล 200 กรัม/ลิตร เติมไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ 0.6 มิลลิกรัม/ลิตร ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 30 มิลลิกรัม/ลิตร ยีสต์ร้อยละ 0.03 และแอมโมเนียมฟอสเฟต ตามลำดับ บ่มที่อุณหภูมิ 20 °ซ จนกระทั่งยุติการหมัก ทำการหมักแบบมาโลแลคติกโดยการเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ Ellos1 บ่มที่อุณหภูมิ 20 °ซ จนกระทั่งยุติการหมัก ปรับไวน์ให้มีปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระ 30 มิลลิกรัม/ลิตร

วิเคราะห์คุณภาพไวน์เม่าหลังยุติการหมักแบบมาโลแลคติก ดังนี้

1. คุณภาพทางเคมีและกายภาพ - เช่นเดียวกับข้อ 1.2

2. ชนิดและปริมาณของอนุพันธ์แอนโธไซยานิน ปริมาณแอนโธไซยา ปริมาณสารประกอบฟีนอล และปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(ดัดแปลงจาก Ann *et al*., 2010 Choong *et al*., 2007; Adeolu *et al*., 2009; Zoecklein *et al*., 1995)

3. ชนิดและปริมาณสารระเหยที่ให้กลิ่น โดยวิธี Gas Chromatography Mass Spectroscopy (GC-MS) (ดัดแปลงจาก Bonino *et al*., 2003; Agilent Technology, 2007)

4. การทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อตัวอย่างไวน์เม่าในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ผู้มีประสบการณ์ในการทดสอบผลิตภัณฑ์ไวน์จำนวน 13 คน ประเมินคุณภาพไวน์ด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ รสชาติที่ยังกรุ่นอยู่ในปาก ความประทับใจโดยรวม (George Vierra, Napa Valley College Wine Score Card, 2011)

วางแผนการทดลองแบบ CRD (α=0.01) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ DMRT (α=0.05) ทำการคัดเลือกตัวอย่างไวน์เม่าโดยการพิจารณาค่าพารามิเตอร์การหมักที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน และองค์ประกอบที่สำคัญ ได้แก่ สารประกอบคาร์บอนิล (Sulfur binding capacity) ต่ำ สารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง มีชนิดของสารให้กลิ่นที่ดี และมีการยอมรับทางประสาทสัมผัสสูง ทำการคัดเลือกไวน์เม่าตัวอย่างจำนวน 1 สิ่งทดลองไปศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคในตอนที่ 2 ข้อ 2.1 ต่อไป

ตอนที่ 2 ศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัส

2.1 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค (Consumer test)

ทำการประเมินการยอมรับของผู้บริโภคชาวไทย โดยคัดเลือกผู้ประเมินจากผู้บริโภคที่มีความคุ้นเคยกับไวน์เม่ามาก่อน โดยใช้กลุ่มผู้บริโภคที่มีภูมิลำเนาอยู่ในจังหวัดสกลนครและใกล้เคียง จำนวน 106 คน ใช้ตัวอย่างไวน์เม่าที่ผ่านการคัดเลือกแล้วจากตอนที่ 1 ข้อ 1.3 จำนวน 1 สิ่งทดลอง เปรียบเทียบกับตัวอย่างไวน์องุ่นเชิงพาณิชย์

ผู้บริโภคประเมินความชอบต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้าน กลิ่น รสชาติ และความประทับใจโดยรวม (George Vierra, Napa Valley College Wine Score Card, 2011) ประเมินการยอมรับและการตัดสินใจซื้อโดยใช้สเกลยอมรับหรือไม่ยอมรับ เปรียบเทียบระหว่างไวน์เม่ากับไวน์องุ่นที่มีจำหน่ายทางการค้า และเปรียบเทียบผลการตัดสินใจซื้อไวน์เม่าก่อนและหลังจากทราบข้อมูลด้านประโยชน์การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระหรือความมีประโยชน์ต่อสุขภาพ

2.2 การประเมินคุณลักษณะคุณภาพด้านกลิ่นของไวน์เม่า

ทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธีการทดสอบเชิงพรรณนา (Descriptive analysis) (Meilgaard *et al.*, 1999) โดยใช้ผู้ทดสอบที่มีประสบการณ์ในการดื่มไวน์เม่ารับการฝึกฝน (Trained panelists) จำนวน 10 คน เพื่อหาคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของไวน์เม่าทุกหน่วยทดลอง เพื่อพัฒนาคำศัพท์และวัดระดับความเข้มของผลิตภัณฑ์ โดยใช้สเกลที่มีความยาว 15 เซนติเมตร ผู้ทดสอบให้คะแนนการประเมินคุณภาพความเข้มของกลิ่นไวน์ คำนวณค่าความเข้มของกลิ่นไวน์เม่าจากผู้ทดสอบ เพื่อหาหน่วยทดลองที่เหมาะสมในการหมักไวน์เม่า

วางแผนการทดลองแบบ Random completed random design (RCBD) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ DMRT (α=0.05) รายงานผลคุณลักษณะและค่าความเข้มของแต่ละคุณลักษณะของแต่ละตัวอย่างไวน์เม่าเปรียบเทียบกัน และรายงานผลการจำแนกคุณลักษณะกลิ่นของไวน์เม่าในรูปผังหรือวงล้อกลิ่น (Aroma wheel) ลักษณะกลิ่นของไวน์เม่าเพื่อใช้เป็นต้นแบบการทดสอบคุณภาพกลิ่นไวน์เม่า

สรุปผลการทดลอง

สรุปผลการทดลองเพื่อหากระบวนการผลิตไวน์เม่าที่เหมาะสม โดยสร้างสูตรการผลิตไวน์เม่าที่มีคุณภาพดี ประกอบด้วย สายพันธุ์ยีสต์ ปริมาณแอมโมเนียมฟอสเฟต อุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ ระบุชนิดอนุพันธ์ของแอนโธไซยานิน ชนิดสารให้กลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ ปริมาณสารต่อต้านอนุมูลอิสระ และการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

4.ผลการวิจัย

ตอนที่ 1 ศึกษากระบวนการผลิตที่เหมาะสมของไวน์เม่า

1.1 องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของน้ำเม่า

น้ำเม่าจากผลเม่าพันธุ์ฟ้าประทาน มีองค์ประกอบทางเคมีและกายภาพ ดังนี้ ค่าพีเอช 3.3 ปริมาณกรดทั้งหมด (เทียบกับกรดซิตริค) 10.5 กรัม/ลิตร ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 13.4 ^{o}Brix

มีกรดซิตริคเป็นกรดหลัก 8.24 กรัม/ลิตร รองลงมาคือกรดทาร์ทาริก 3.0 กรัม/ลิตร และกรดมาลิค 0.8 กรัม/ลิตร กลูโคส 81.1 กรัม/ ลิตร และฟรุคโตส 76.4 กรัม/ลิตร ค่าความเข้มสี 7.21 และค่าตัวสี 4.86

1.2 ความสัมพันธ์ของสายพันธุ์ยีสต์และปริมาณแอมโมเนียมฟอสเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิตไวน์เม่า

การใช้สายพันธุ์ยีสต์ร่วมกับปริมาณแอมโมเนียมฟอสเฟตมีผลต่อพารามิเตอร์การหมักของตัวอย่างไวน์เม่า พบว่า ทุกหน่วยมีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน แต่ยังมีอัตราการสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ค่อนข้างต่ำ โดยมีตัวอย่างไวน์ที่มีการใช้สายพันธุ์ยีสต์ GHM ร่วมกับการใช้แอมโมเนียมฟอสเฟต 300 มิลลิกรัม/ลิตร มีน้ำตาลรีดิวซ์เหลืออยู่สูงกว่ามาตรฐาน Dry wine แสดงให้เห็นว่าเกิดกิจกรรมการหมักไม่สมบูรณ์ และอาจต้องการใช้สารอาหารเพิ่มขึ้นในระหว่างการหมัก โดยไวน์ตัวอย่างที่ใช้ยีสต์สายพันธุ์ Rhöne2323 ร่วมกับการใช้แอมโมเนียมฟอสเฟต 300, และ 500 มิลลิกรัม/ลิตร, และการใช้ยีสต์สายพันธุ์ GHM ร่วมกับการใช้แอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร มีค่า Sulphur binding capacity ต่ำกว่าตัวอย่างอื่น ดังนั้นจึงได้คัดเลือกตัวอย่างดังกล่าวไปทำการศึกษาการหมักแบบมาโลแลคติค ในหัวข้อที่ 1.3 ต่อไป

1.3 ผลการหมักแบบมาโลแลคติกไวน์เม่า

ศึกษาการลดกรดด้วยวิธีการหมักแบบมาโลแลคติกต่อไวน์ตัวอย่างจำนวน 3 สิ่งทดลอง ได้แก่ การใช้ยีสต์สายพันธุ์ Rhöne2323 ร่วมกับแอมโมเนียมฟอสเฟต 300, และ 500 มิลลิกรัม/ลิตร และการใช้ยีสต์สายพันธุ์ GHM ร่วมกับแอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร

เตรียมน้ำหมักโดยใช้น้ำเม่าหมักร่วมกับกากเม่า เติมเชื้อยีสต์ และแอมโมเนียมฟอสเฟตที่แตกต่างกันทั้ง 3 สิ่งทดลอง แล้วหมักที่อุณหภูมิ 20°ซ จนกระทั่งยีสต์ยุติการหมัก แล้วจึงเติมเชื้อมาโลแลคติคแบคทีเรีย Ellos 1 หมักต่อเป็นครั้งที่สอง ทำการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพ

1.3.1 องค์ประกอบทางเคมีของไวน์เม่าที่ผ่านการหมักแบบมาโลแลคติก

ตัวอย่างไวน์ที่หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ Rhöne2323 ร่วมกับแอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร มีการสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงสุด คือ 22.53 กรัม/ลิตร/วัน และตัวอย่างไวน์ที่เหลือคือ 16.44 กรัม/ลิตร/วัน การหมักน้ำเม่าร่วมกับกากมีผลทำให้ไวน์ทุกตัวอย่างมีการสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สูงขึ้นจาก 10.96-14.77 กรัม/ลิตร/วัน เป็น 16.7-22.5 กรัม/ลิตร/วัน และทุกตัวอย่างใช้ระยะเวลาในการหมักลดลงจากเดิม เพราะมีการสกัดสารอาหารจากกากเม่าได้สูงขึ้น เช่นเดียวกับการทำไวน์องุ่นนิยมให้มีขั้นตอนการแช่หรือหมักน้ำองุ่นพร้อมกากและเมล็ดองุ่น เพื่อเพิ่มความเข้มสี กลิ่น ความเฝื่อนฝาด ความสมดุลของรสชาติ และสารประกอบฟีนอล (Bakker and Clake, 2012) มีสารประกอบไนโตรเจนที่ละลายได้ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโนมีปริมาณสูงขึ้น (Sneyd, 1989)

ตัวอย่างไวน์เม่ามีกระบวนการหมักและองค์ประกอบทางเคมีอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน โดยมีค่าพีเอช 3.1-3.2 ปริมาณกรด 6.23-6.36 กรัม/ลิตร ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 5.3-6.0 Brix ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 0-0.27 กรัม/ลิตร แอลกอฮอล์ 12.5-12.8 %vol. และตัวอย่างมีค่า Sulphur binding capacity ต่ำและใกล้เคียงกันคือ 41.66-44.68 มิลลิกรัม/ลิตร แสดงว่าการปรับคุณภาพน้ำหมักมีผลทำให้กิจกรรมการหมักของยีสต์เกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพขึ้น

การหมักไวน์แบบมาโลแลคติก เป็นการหมักครั้งที่สองที่เกิดขึ้นต่อจากการหมักด้วยยีสต์ โดยเชื้อมาโลแลคติคแบคทีเรีย จะทำการเปลี่ยนกรดมาลิกซึ่งให้รสเปรี้ยวกระด้างให้กลายเป็นกรดแลคติกซึ่งให้รสเปรี้ยวที่นุ่มนวลกว่า (Bisson, 2012) และทำให้ไวน์มีกลิ่นรสเฉพาะ การหมักด้วยยีสต์สามารถเพิ่มกลิ่นเขียวคล้ายหญ้าหรือพืชผัก แต่การหมักแบบมาโลแลคติคจะช่วยทำให้ลดกลิ่นเหล่านี้ลงและเพิ่มกลิ่นผลไม้ จึงนิยมใช้กับการหมักไวน์แดงที่มีคุณภาพสูง ผลการศึกษา พบว่า กรดมาลิคมีค่าลดลงจาก 0.28-0.37 กรัม/ลิตร เป็นศูนย์ ตรงกันข้ามกับกรดแลคติคมีค่าสูงขึ้นจาก 0.61-0.92 กรัม/ลิตร เป็น 1.18-1.29 กรัม/ลิตร ชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียสามารถย่อยกรดมาลิคให้กลายเป็นกรดแลคติคได้อย่างสมบูรณ์ และปริมาณกรดในไวน์เม่าลงได้ถึง 1.26-1.47 กรัม/ลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับเกณฑ์ทั่วไปในการทำมาโลแลคติคไวน์องุ่นสามารถทำให้ความเป็นกรดลดลง 1.5-4.0 กรัม/ลิตร (Shea, 2008)

1.3.2 อนุพันธ์แอนโทไซยานิน ฟีนอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1) ชนิดและปริมาณของอนุพันธ์แอนโทไซยานิน

แอนโธไซยานินเป็นสารสีที่พบในมะเม่าทั้งผล เมื่อเริ่มสุกก็จะมีการเปลี่ยนแปลงจากสีแดงเป็นสีม่วงดำถึงเกือบ (Harborne, 1989) โดยแอนโธไซยานินที่มีพันธะคู่และโครงสร้างที่แตกต่างกันจะทำให้อิเล็กตรอนสามารถเคลื่อนที่ได้ทั่วโมเลกุล (Delocalization) สามารถเพิ่มฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Virachnee *et al*., 2008; โอภา และคณะ, 2550) ผลการศึกษาพบอนุพันธ์แอนโทไซยานินหลักคือ Cyanidin และ Peonidin จำนวน 12-15 ชนิด และสูงสุดในตัวอย่างไวน์เม่าที่หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ GHM ร่วมกับแอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร ได้แก่ Cyanidin-3-arabinoside, Peonidin-3-arabinoside, Delphinidin-3-arabinoside, Cyanidin-3-glucoside, Peonidin-3-glucoside หรือ Malvidin-3-arabinoside, Delphinidin-3-galactoside (หรือDelphinin-3-glucoside), Malvidin-3-glucoside, Malvidin-3-galactoside, Cyanidin-3-sambubiose (หรือ Catechyl-pyranocyanidin-3-glucoside), Cyadinin-3-rutinoside, Peonidin-3-rutinoside (หรือ Peonidin-3-(6-p-coumaroyl)-glucoside), Delphinin-3-(6-p-coumaroyl)-glucoside หรือ Delphinin-3-rutinoside (หรือ Cyanidin-3,5-dihexoside หรือ Cyanidin-3,5-diglucoside), Peonidin-3-(6-p-caffeoyl)-glucoside, Cyanidin-3-sambubiose-5-glucose (หรือ Cyanidin-3-sophoroside-5-xyloside), และ Malvidin-3-rutinoside-5-glucoside

พบอนุพันธ์ Peonidin-3-arabinoside, Cyanidin-3-glucoside, Malvidin-3-glucoside, Cyanidin-3-rutinoside และ Peonidin-3-(6-p-caffeoyl)-glucoside คือ 1.63-3.22, 8.33-10.76, 2.22-2.83, 0.62-1.11 และ 0.64-0.84 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ทุกตัวอย่างมีปริมาณ Cyanidin-3-glucoside และ Peonidin-3-(6-p-caffeoyl)-glucoside สูงกว่าไวน์องุ่นที่มีเพียง 2.87 และ 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ แต่พบ Malvidin-3-glucoside ต่ำกว่า โดยพบในไวน์องุ่น 128.09-209 มิลลิกรัม/ลิตร (Moreno *et al*., 2008; Soriano *et al*., 2007) ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Ana *et al.* (2010) ที่พบ Malvidin-3-glucoside 57.1 มิลลิกรัม/ลิตร ในไวน์แดงจากองุ่นพันธุ์ Carbernet Sauvignon

2) **ปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมด**

ผลการศึกษาปริมาณแอนโธไซยานินในไวน์เม่า พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 33-38 มิลลิกรัม/ลิตร แต่มีแนวโน้มว่าการใช้ยีสต์สายพันธุ์ GHM ร่วมกับแอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร มีปริมาณแอนโธไซยานินสูงกว่าสิ่งทดลองอื่น และทุกตัวอย่างมีปริมาณแอนโธไซยานินสูงขึ้นเป็นสองเท่าเมื่อเปรียบเทียบกับ Must คือเพิ่มจาก 18 มิลลิกรัม/ลิตร เป็น 33–38 มิลลิกรัม/ลิตร สอดคล้องกับงานวิจัยของ Maria (2006) พบว่า ไวน์แดงมีปริมาณแอนโธไซยานินเพิ่มขึ้นหลังจากการหมักบ่มนาน 4 เดือน

3) ปริมาณสารประกอบฟีนอล

ผลการศึกษาปริมาณฟีนอลในไวน์เม่า พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 88–93 มิลลิกรัมGAE/ลิตร ไวน์เม่าที่หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ GHM ร่วมกับแอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร มีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงสุดคือ 92.48 มิลลิกรัมGAE/ลิตร และทุกตัวอย่างมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลสูงขึ้นร้อยละ 14-22 เมื่อเปรียบเทียบกับ Must คือเพิ่มจาก 76 มิลลิกรัมGAE/ลิตร เป็น 88–93 มิลลิกรัมGAE/ลิตร เนื่องจากเอธานอลในไวน์เพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดและแตกตัวของสารประกอบฟีนอล (Nagendran, 2005)

4) ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ความสามารถการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง จะแสดงถึงประสิทธิภาพในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระสูง (เฉลิมพงษ์และไชยวัฒน์, 2547) พบว่า ตัวอย่างไวน์เม่ามีค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันอยู่ในช่วง 1200-1261 มิลลิกรัม TEAC /ลิตร และสูงขึ้นถึงร้อยละ 49 เมื่อเปรียบเทียบกับ Must คือจาก 823 มิลลิกรัม/ลิตร เป็น 1201-1248 มิลลิกรัม/ลิตร เนื่องจากเอทธานอลในไวน์เพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดและแตกตัวของสารประกอบฟีนอล (Nagendran, 2005) ส่งผลให้มีปริมาณฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้นด้วย

สรุปผลการศึกษา พบว่าการใช้ยีสต์สายพันธุ์ GHM ร่วมกับแอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ตัวอย่างไวน์เม่ามีชนิดของอนุพันธ์แอนโธไซยานิน แอนโธไซยานินทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสิ่งทดลองอื่น โดยกระบวนการหมักมีผลทำให้ไวน์เม่าทุกตัวอย่างมีปริมาณค่าดังกล่าวสูงกว่า Must

1.3.3 ชนิดและปริมาณของสารให้กลิ่นในไวน์เม่า

ผลการศึกษาชนิดและปริมาณของสารให้กลิ่นในไวน์เม่า พบสารให้กลิ่นระเหยจำนวน 30-37 ชนิด แบ่งเป็น 5 กลุ่ม คือ Esters, Terpenoids, Alcohols, Acids และกลุ่มอื่น ๆ ดังนี้

Esters เป็นสารให้กลิ่นระเหยที่ให้กลิ่นของดอกไม้และผลไม้นานาชนิด (Ana *et al*., 2009; Thurston *et al*., 1981) เป็นสารให้กลิ่นหลักที่พบในไวน์เม่าตัวอย่างมากถึง 29 ชนิด ไวน์ตัวอย่างที่หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ Rhöne2323 ร่วมกับการใช้แอมโมเนียมฟอสเฟต 300 มิลลิกรัม/ลิตร มีสัดส่วนของ Ester มากที่สุดคือร้อยละ 45.77 พบ Butanoic acid ethyl ester ให้กลิ่นผลไม้, Hexanoic acid ethyl ester ให้กลิ่นหวาน ผลไม้ และกลิ่นเขียว และ Phthalic acid diisobutyl ester อยู่ในช่วง 1.2–3.5, 18.4– 61.4 และ 7.2–9.1 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ Ester จะมีผลต่อคุณภาพกลิ่นรสของไวน์ และบางชนิดมีความสัมพันธ์กับไนโตรเจนในน้ำหมัก (Houtman *et al*., 1980a; 1980b)

Terpenoids เป็นสารที่ให้กลิ่นของผลไม้ (Horvat and Chapman, 1990) พบ Terpenoids จำนวน 4 ชนิดในไวน์เม่าจากตัวอย่าง ได้แก่ Limonene เป็นสารให้กลิ่นคล้ายผลไม้ตระกูลส้ม (Kurt *et al*., 2011) ปริมาณ 2.11–3.22 ไมโครกรัม/ลิตร ไวน์ตัวอย่างที่หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ Rhöne2323 ร่วมกับแอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร มีความเข้มข้นมากกว่าตัวอย่างอื่นประมาณ 1 เท่า พบ Beta.-linalool ที่ให้กลิ่นดอกไม้ กลิ่นหวาน และดอกกุหลาบ ในไวน์ตัวอย่างที่หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ Rhöne2323, และ GHM ร่วมกับการใช้แอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร ส่วนไวน์เม่าที่หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ GHM ร่วมกับการใช้แอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร พบ Beta.-Myrcene ที่ให้กลิ่นพริกไทยและรสเผ็ดร้อนในปริมาณ 3.71 ไมโครกรัม/ลิตร (De la Calle Garcia *et al*., 1998) Terpenoids แสดงถึงเอกลักษณ์ของไวน์ที่ผลิตจากองุ่นตามสายพันธุ์ ซึ่ง*Saccharomyces* บางสายพันธุ์สามารถสร้างกลิ่นดอกไม้ให้แก่ไวน์ได้ หากมีสภาวะการหมักที่เหมาะสม เช่น การเติมไนโตรเจน (Carrau *et al*., 2005)

Alcohols เป็นสารให้กลิ่นหญ้าเขียวสดและกลิ่นหวาน (Russell, 2006) การใช้ยีสต์ต่างสายพันธุ์มีผลต่อการสร้าง Alcohols ในปริมาณที่แตกต่างกันไป (Ana *et al*., 2009) ซึ่งจะให้ผลทั้งด้านดีและไม่ดีต่อกลิ่นรสของไวน์ เมื่อมีปริมาณเหมาะสมจะให้กลิ่นหอมของผลไม้ แต่หากสูงเกินไปจะให้กลิ่นฉุน (Nykanen *et al*., 1977; Lambrechts and Pretorius, 2000; Swiegers and Pretorius, 2005) และความเข้มข้นของกรดอะมิโนในน้ำหมักก็มีผลต่อการสร้าง Alcohols ด้วยเช่นกัน (Schulthess and Ettlinger, 1978) ผลการศึกษาพบ Alcohols จำนวน 8 ชนิด โดยไวน์เม่าที่หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ Rhöne2323 ร่วมกับแอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร สร้าง 2-Methyl-l butanol ซึ่งให้กลิ่นผลไม้และหัวหอม, Phenethyl alcohol ให้กลิ่นดอกกุหลาบ และ 2,3-Butanediol ให้กลิ่นผลไม้และกลิ่นเนย มีปริมาณสูงสุด คือ 50.49, 83.16 และ 6.73 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ

Acids เป็นสารที่ให้รสเปรี้ยว พบหลายชนิดในไวน์ เช่น Acetic acid จะให้กลิ่นฉุนของน้ำส้มสายชูและมีรสเปรี้ยว แต่ถ้ามีความเข้มข้นสูงก็จะให้รสเปรี้ยวและขม (Eveline and Paul, 2008) และใช้บ่งชี้ว่าไวน์เสียหรือไม่ (Sponholz, 1993) จากผลการศึกษาพบกรด Acetic acid อยู่ในช่วง 4.83-18.37 ไมโครกรัม/ลิตร และ Octanoic acid ซึ่งให้กลิ่นผลไม้ กลิ่นสบู่ และกลิ่นเปรี้ยวในปริมาณ 8.39 ไมโครกรัม/ลิตร เฉพาะในไวน์ตัวอย่างที่หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ Rhöne2323 ร่วมกับการใช้แอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร

สรุปผล สายพันธุ์ยีสต์ ปริมาณแอมโมเนียมฟอสเฟต และสภาวะการหมักมีผลต่อการสร้างสารให้กลิ่นระเหยในไวน์เม่าตัวอย่าง โดยพบสารให้กลิ่นระเหยจำนวน 30–37 ชนิด สามารถแบ่งเป็นกลุ่มของ Esters, Terpenoids, Alcohols และ Acids โดยพบสารกลุ่ม Esters มากที่สุด ผลการศึกษาสามารถใช้บ่งชี้ถึงความเหมาะสมของพารามิเตอร์การหมัก การวิเคราะห์เชิงคุณภาพของกระบวนการผลิต และใช้สำหรับอธิบายความเป็นเอกลักษณ์หรือคุณลักษณะคุณภาพผลิตภัณฑ์ไวน์เม่าร่วมกับการทดสอบทางประสาทสัมผัส

1.3.4 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผู้ทดสอบให้คะแนนการทดสอบด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นหอม รสชาติ รสชาติที่ยังกรุ่นอยู่ในปาก และความประทับใจโดยรวมของไวน์เม่าทุกตัวอย่างอยู่ในเกณฑ์ดี (12.08 -12.92 คะแนน) เมื่อพิจารณาโดยการใช้เกณฑ์ด้านกลิ่นและรสชาติของไวน์เม่าเป็นปัจจัยสำคัญตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ ไวน์ตัวอย่างที่ใช้ยีสต์สายพันธุ์ GHM ร่วมกับแอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร มีแนวโน้มที่ผู้บริโภคจะยอมรับคุณสมบัติด้านกลิ่นและรสชาติดีที่สุด

สรุปผลการศึกษาด้านเคมีและทางประสาทสัมผัส

ไวน์ตัวอย่างที่ใช้ยีสต์สายพันธุ์ GHM ร่วมกับแอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร มีคุณสมบัติด้านกลิ่นและรสชาติมีแนวโน้มที่ผู้บริโภคจะยอมรับได้ดี และไม่ต้องได้รับการปรับปรุงการผลิตด้านกลิ่น มีชนิดของอนุพันธ์แอนโธไซยานิน ปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอล และฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสิ่งทดลองอื่น จึงได้รับการคัดเลือกนำไปทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคในตอนที่ 2 ข้อ 2.1 ต่อไป

ตอนที่ 2 ศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัส

2.1 การยอมรับและการตัดสินใจซื้อของผู้บริโภคไวน์เม่าเปรียบเทียบกับไวน์องุ่นเชิงพาณิชย์

ผลการประเมินการยอมรับของผู้บริโภคชาวไทยที่มีต่อไวน์ตัวอย่างที่หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ GHM ร่วมกับการใช้แอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร เปรียบเทียบกับตัวอย่างไวน์องุ่นเชิงพาณิชย์ ดังนี้

ด้านพฤติกรรมการบริโภคไวน์ของผู้ตอบแบบสอบถาม พบว่า มีความถี่ในการดื่มไวน์มากที่สุดปีละครั้งร้อยละ 31 2-3 ครั้งต่อเดือน และ 1 ครั้งต่อเดือนเท่ากันคิดเป็นร้อยละ 20 สถานที่ที่ซื้อไวน์มากที่สุดคือร้านค้าโอท็อปร้อยละ 51 และร้านจำหน่ายไวน์เฉพาะทางร้อยละ 13 ราคาไวน์ที่ซื้ออยู่ในระดับต่ำกว่า 500 บาทมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 70 และราคาระหว่าง 500-999 บาทร้อยละ 24 โดยผู้ตอบแบบสอบถามส่วนใหญ่เป็นผู้ที่มีความรู้เกี่ยวกับไวน์ในระดับรู้บ้างเล็กน้อยร้อยละ 60 มีความรู้พอสมควรร้อยละ 25 และชอบไวน์ที่ผลิตในประเทศไทยมากที่สุดร้อยละ 85 และฝรั่งเศสร้อยละ 16 และปัจจัยที่ใช้ในการตัดสินใจเลือกซื้อไวน์ที่อยู่ในเกณฑ์สำคัญมากที่สุดคือด้านลักษณะปรากฏ รสชาติและกลิ่นของไวน์ ด้านข้อกล่าวอ้างคุณประโยชน์ต่อร่างกาย ชนิดของผลไม้ที่ใช้ทำไวน์ ราคา และประเทศผู้ผลิต

ผู้บริโภคมีความชอบต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสไวน์ทั้งสองตัวอย่างด้านกลิ่น รสชาติและความประทับใจโดยรวมอยู่ในระดับเยี่ยม และยอมรับไวน์เม่าและไวน์องุ่นร้อยละ 92 และ 86 ตามลำดับ และคิดว่าจะซื้อไวน์เม่าและไวน์องุ่นที่ทดสอบหากจำหน่ายในราคาระหว่าง 500-999 บาทร้อยละ 68 และ 73 ตามลำดับ

ผลการติดตามการเปลี่ยนแปลงการยอมรับและตัดสินใจซื้อไวน์เม่าของผู้บริโภคก่อนและหลังจากทราบข้อมูลด้านประโยชน์การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระหรือความมีประโยชน์ต่อสุขภาพ พบว่า ผู้บริโภคยอมรับไวน์เม่าก่อนและหลังทราบข้อมูลด้านประโยชน์ต่อสุขภาพไวน์ร้อยละ 92 และ 98 ตามลำดับ และผู้บริโภคคิดว่าจะซื้อไวน์เม่าที่จำหน่ายในราคาระหว่าง 500-999 บาทก่อนและหลังทราบข้อมูลร้อยละ 68 และ 78 ตามลำดับ

2.2 ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบเชิงพรรณนา

ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบเชิงพรรณนา โดยการหาค่าความเข้ม (Intensity) ในไวน์เม่าทั้ง 3 สิ่งทดลองคือการใช้ยีสต์สายพันธุ์ Rhöne2323 ร่วมกับแอมโมเนียมฟอสเฟต 300, และ 500 มิลลิกรัม/ลิตร, และการใช้ยีสต์สายพันธุ์ GHM ร่วมกับแอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่า มีคุณลักษณะด้านกลิ่นจำนวน 29 คุณลักษณะ มีค่าเฉลี่ยความเข้มของกลิ่นที่วัดด้วยสเกลเส้นตรงความยาว 15 เซนติเมตร จากมากไปน้อย คือ กลิ่นเม่า (6.66-7.06) กลิ่นมะขามเปียก

(6.10-6.97) กลิ่นกระเจี๊ยบ (6.41-6.96) และกลิ่นพรุน (6.10-6.76) และมีค่าเฉลี่ยความเข้มของกลิ่นโอ๊คต่ำสุด (2.49-3.88) และไม่มีความแตกต่างกันระหว่างสิ่งทดลอง

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยการจำแนกกลุ่มตัวแปรเพื่อค้นหาคุณลักษณะกลิ่นที่โดดเด่นของไวน์เม่าตัวอย่าง พบว่า ตัวแปรคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นจำนวน 29 คุณลักษณะจำแนกได้เป็น 6 กลุ่มเช่นเดียวกันทุกสิ่งทดลอง แต่ละกลุ่มมีความโดดเด่นแตกต่างกัน ยกตัวอย่างเช่นตัวอย่างไวน์เม่าที่ใช้ยีสต์สายพันธุ์ GHM ร่วมกับแอมโมเนียมฟอสเฟต 500 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งเป็นสิ่งทดลองที่ได้ผ่านการประเมินผลทางประสาทสัมผัสทั้งด้านกลิ่นและรสชาติของไวน์เม่า และได้นำไปทดสอบผู้บริโภคแล้วนั้น จำแนกตัวแปรทั้ง 6 กลุ่มที่มีความสัมพันธ์กันสูงและจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันได้ดังนี้

<u>กลุ่มที่ 1</u> ประกอบด้วยคุณลักษณะกลิ่นจำนวน 11 กลิ่น คือ กลิ่นอับ กลิ่นเสาวรส กลิ่นน้ำส้มสายชู กลิ่นหญ้าสด กลิ่นผักดอง กลิ่นแอปเปิ้ล กลิ่นบลูเบอรี่ กลิ่นกล้วย กลิ่นอบเชย กลิ่นพริกหยวก และกลิ่นกานพลู

<u>กลุ่มที่ 2</u> ประกอบด้วยคุณลักษณะกลิ่นจำนวน 7 กลิ่น คือ กลิ่นหญ้าแห้ง กลิ่นน้ำผึ้ง กลิ่นกาแฟ กลิ่นโอ๊ค กลิ่นพริกไทย กลิ่นวานิลลา และกลิ่นคาราเมล

<u>กลุ่มที่ 3</u> ประกอบด้วยคุณลักษณะกลิ่นจำนวน 5 กลิ่น คือ กลิ่นแยมสตรอเบอรี่ กลิ่นลูกเกด กลิ่นกระเจี๊ยบ กลิ่นซัลเฟอร์ และกลิ่นเม่า

<u>กลุ่มที่ 4</u> ประกอบด้วยคุณลักษณะกลิ่นจำนวน 4 กลิ่น คือ กลิ่นสับปะรด กลิ่นมะขามเปียก กลิ่นพรุน และกลิ่นเปลือกส้ม

<u>กลุ่มที่ 5</u> ประกอบด้วยคุณลักษณะกลิ่นจำนวน 1 กลิ่น คือ กลิ่นดอกกุหลาบ

<u>กลุ่มที่ 6</u> ประกอบด้วยคุณลักษณะกลิ่นจำนวน 1 กลิ่น คือ กลิ่นสาระแหน่

จากผลการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของไวน์เม่าตัวอย่าง ประกอบด้วย 29 คุณลักษณะ สามารถสร้างเป็น Aroma wheel โดยการจำแนกได้เป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มกลิ่นผลไม้ ประกอบด้วยกลิ่นจำนวน 12 ชนิด กลุ่มกลิ่นผัก ประกอบด้วยกลิ่นจำนวน 4 ชนิด กลุ่มกลิ่นสมุนไพร ประกอบด้วยกลิ่นจำนวน 6 ชนิด กลุ่มกลิ่นคาราเมล ประกอบด้วยกลิ่นจำนวน 2 ชนิด กลิ่นดอกไม้ ประกอบด้วยกลิ่นจำนวน 1 ชนิด และกลุ่มกลิ่นไม่พึงประสงค์ ประกอบด้วยกลิ่นจำนวน 4 ชนิด

การตรวจสอบหา Aroma descriptors ครั้งนี้ ผู้ทดสอบสามารถถ่ายทอดการรับกลิ่นไวน์เม่าตัวอย่างออกมาเป็นคำศัพท์ที่สื่อสารบน Aroma wheel ต้นแบบ และให้ความเข้าใจในเชิงของคุณภาพไวน์ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคในการเลือกซื้อไวน์เม่าตามคุณภาพที่ต้องการ และผู้ผลิตนำไปใช้ประโยชน์ในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพต่อกระบวนการผลิต และการเขียนคำพรรณนาคุณภาพด้านกลิ่นของไวน์เม่าบนฉลากได้อย่างมีประสิทธิภาพ

6. ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย

การพัฒนาพารามิเตอร์กระบวนการผลิตไวน์เม่าฉบับนี้ ทำให้ได้รับทราบข้อมูลที่สำคัญหลายประการ ได้แก่ การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และสารเสริมไนโตรเจน ตลอดจนอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการกระบวนการหมักของยีสต์ ตลอดจนสารต่อต้านอนุมูลอิสระ และสารให้กลิ่นรสที่ดี อย่างไรก็ตามการผลิตไวน์เม่ายังมีปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องอีกมากมาย เช่น สายพันธุ์เม่า ปีที่เก็บเกี่ยว สภาพภูมิอากาศ กระบวนการหมัก และการบ่ม เป็นต้น ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงขอเสนอแนะแนวทางการศึกษาเพื่อพัฒนาคุณภาพไวน์เม่า ดังต่อไปนี้

1. การศึกษาด้านสายพันธุ์เม่าและปีที่เก็บผลผลิตที่มีผลต่อชนิดของสารให้กลิ่นรสของไวน์เม่าและคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส
2. การศึกษาด้านสายพันธุ์เม่าและกระบวนการผลิตที่มีผลต่อการที่ผลเม่าเริ่มต้นมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงและของไวน์เม่า และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
3. การศึกษากรรมวิธีการลดรสเปรี้ยวในไวน์เม่าจากผลเม่าสายพันธุ์ต่าง ๆ ได้แก่ การหมักแบบมาโลแลคติก การลดกรดทาร์ทาริค และการใช้ยีสต์ที่ได้รับการตัดต่อยีนส์เฉพาะ เพื่อปรับปรุงด้านรสชาติของไวน์เม่าให้มีความกลมกล่อมและได้มาตรฐานยิ่งขึ้น
4. การศึกษาการจัดการสวนผลเม่า เพื่อผลิตผลเม่าให้มีองค์ประกอบคุณภาพทางเคมีและกายภาพ เช่น มีปริมาณกรด ปริมาณน้ำตาล ปริมาณไนโตรเจน วิตามิน และแร่ธาตุที่เหมาะสมต่อกิจกรรมการหมักของยีสต์ เพราะผลเม่าที่มีคุณภาพดีสามารถนำมาผลิตให้เป็นไวน์เม่าที่มีคุณภาพดีได้
5. การศึกษาการยอมรับทางประสาทสัมผัสและจัดสร้าง Aroma wheel ของไวน์เม่าจากผลเม่าสายพันธุ์ต่าง ๆ เช่นเดียวกับที่ได้ทำในโครงการวิจัยครั้งนี้ แต่เนื่องจากผลเม่าสายพันธุ์ที่แตกต่างกันจะทำให้ไวน์เม่าที่กลิ่นรสนานาชนิดที่มีความแตกต่าง ๆกันด้วย การจัดทำ Aroma wheel จะเป็นการบอกเอกลักษณ์ด้านกลิ่นไวน์เม่าที่ผลิตจากผลเม่าสายพันธุ์ต่าง ๆ ทำให้ผู้บริโภคเข้าใจชนิดของกลิ่นที่พบในไวน์เม่า และสามารถเลือกซื้อไวน์เม่าที่มาจากผลเม่าสายพันธุ์ต่าง ๆได้ตามต้องการ
6. การศึกษาคุณภาพทางเคมีและทางประสาทสัมผัสของไวน์เม่าในระหว่างการเก็บบ่มและวิธีการเก็บบ่มก็นับว่าเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่ง เพราะระหว่างการเก็บบ่ม จะทำให้มีพัฒนาการการสร้างสารให้กลิ่นในไวน์เพิ่มขึ้นและทำให้ไวน์มีกลิ่นรสที่ซับซ้อนเป็นที่น่าพึงพอใจมากขึ้น

7. การนำไปใช้ประโยชน์

7.1 สามารถนำกระบวนการผลิต และ Mao Wine Aroma Wheel ไปจดสิทธิบัตรเพื่อผลประโยชน์ด้านการรักษาทรัพย์สินทางปัญญาและเชิงพาณิชย์

7.2 ผู้ผลิตสามารถนำผลการวิจัยไปปรับปรุงการผลิตไวน์เม่าระดับอุตสาหกรรม

7.3 ถ่ายทอดเทคโนโลยีให้แก่กลุ่มเป้าหมายที่ได้รับผลกระทบโดยตรงจากงานวิจัย ได้แก่ ผู้ประกอบการไวน์เม่าอย่างน้อย 10 โรง หรือกลุ่มนักวิชาการไม่น้อยกว่า 30 คน

7.4 สามารถตีพิมพ์ในวารสารวิชาการทั้งในและต่างประเทศไม่น้อยกว่า 2 เรื่อง

7.5 นักวิชาการนำผลงานไปต่อยอดหรือประยุกต์ใช้ เช่น การใช้ประสิทธิภาพของยีสต์ในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การนำพัฒนาผลิตภัณฑ์ผลเม่าในเชิงอาหารสุขภาพจากการพบสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผลเม่า ตลอดจนการใช้ Aroma wheel ต้นแบบ ในการพัฒนาความสามารถการพรรณนาคุณลักษณะกลิ่นในไวน์เม่าให้แก่นักวิชาการ ผู้ผลิต และผู้บริโภค

xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx