

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้ศึกษาขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร. นิอร โฉมศรี ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ให้โอกาส ความรู้ คำแนะนำปรึกษาตลอดจนแนวทางแก้ไขปัญหาในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จสมบูรณ์ ประสบความสำเร็จด้วยดี และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ที่ให้ทุนในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ซึ่งข้าพเจ้าขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้ด้วย ขอขอบพระคุณอาจารย์ ผศ. พงศ์ยุทธ นวลบุญเรือง และอาจารย์ ผศ.ดร. รุ่งนภา ช่างเจรจา ที่ให้คำแนะนำ ชี้แนะในการทดลองด้วยเทคนิคเจลอเล็กโตโพรซิซและการใช้ห้องปฏิบัติการกลาง ขอขอบพระคุณ ผศ. ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน และ ดร.ภัทรภรณ์ ศรีสมรรถการ ที่ให้คำแนะนำและข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์สำหรับวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณบริษัท ซี วาย บอส ที่ให้โอกาสในการฝึกงานและแนะนำองค์ความรู้ต่างๆ เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในงานวิจัยฉบับนี้ ขอขอบพระคุณ ห้างหุ้นส่วนจำกัดแม่ข่ายไวนน์อริ ที่ให้โอกาสในการฝึกทักษะในการนำมาประยุกต์ใช้ในงานวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ ดร. วิรติ อัมพันธ์ และดร. ไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน ที่เสียสละเวลา อันมีค่ามาช่วยให้คำชี้แนะวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณทางสถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง และทีมงานทุกท่านที่อำนวยความสะดวกการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ต่างๆ ตลอดจนสถานที่ในการทำวิทยานิพนธ์

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณค่าใช้จ่ายระหว่างการศึกษา รวมทั้งขอขอบคุณ น้องสาว ญาติ และเพื่อนๆ ทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ตลอดจนเป็นกำลังใจในการศึกษา และการทำวิทยานิพนธ์จนประสบผลสำเร็จลุล่วงด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ค
ABSTRACT	จ
กิตติกรรมประกาศ	ช
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญภาพ	ฅ
สัญลักษณ์และอักษรย่อ	๗
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 สมมติฐานของปัญหาวิจัย	2
1.4 ขอบเขตงานวิจัย	2
1.5 คำสำคัญ	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
2.1 ไวน์ (wine)	3
2.2 ไวน์ผลไม้	8
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพไวน์และไวน์ผลไม้	14
2.4 ยีสต์	16
2.5 สับปะรด	19
2.6 โบรมิเลน	23
บทที่ 3 ผลของระดับความสุกแก่ของสับปะรดและสายพันธุ์ยีสต์ต่อการผลิตไวน์สับปะรด	26
บทนำ	26
อุปกรณ์และวิธีการ	29

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.1 ศึกษาคุณภาพสับปะรดที่ใช้เป็นวัตถุดิบ	29
3.2 ศึกษาผลของระดับความสุกแก่และสายพันธุ์ต่อคุณลักษณะการหมัก ไวน์สับปะรด	29
3.3 การวิเคราะห์คุณภาพไวน์สับปะรด	31
3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ	31
ผลการทดลอง	32
3.1 คุณภาพของสับปะรดที่ใช้เป็นวัตถุดิบ	32
3.2 ผลของระดับความสุกแก่และสายพันธุ์ยีสต์ต่อคุณลักษณะการหมัก ไวน์สับปะรด	35
3.3 ผลของระดับความสุกแก่และสายพันธุ์ยีสต์ต่อคุณภาพไวน์สับปะรด	43
วิจารณ์	50
สรุป	55
บทที่ 4 ค่ากิจกรรมโบรมิเลนในกระบวนการทำไวน์สับปะรด	57
บทนำ	57
อุปกรณ์และวิธีการ	59
4.1 คุณลักษณะของโบรมิเลนในน้ำสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ต่างๆ	59
4.2 ค่ากิจกรรมของโบรมิเลนในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดและในไวน์สับปะรด	59
4.3 การจำแนกโปรตีนในไวน์สับปะรด	59
4.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ	60
ผลการทดลอง	61
4.1 คุณลักษณะของโบรมิเลนในน้ำสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ต่างๆ	61
4.2 ค่ากิจกรรมของโบรมิเลนในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดและในไวน์สับปะรด	61
4.3 ผลของการจำแนกโปรตีนของไวน์สับปะรด	66

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
วิจารณ์	71
สรุป	73
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	74
บทที่ 6 เอกสารอ้างอิง	77
ภาคผนวก	90
ภาคผนวก ก ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและทางจุลินทรีย์	91
ภาคผนวก ข การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	102
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี	103
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	115
ภาคผนวก จ แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไวน์สับปะรด	127
ภาคผนวก ฉ ภาพกิจกรรมในระหว่างการดำเนินการ	131
ประวัติผู้เขียน	136

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ปริมาณของเอสเทอร์ที่พบในไวน์ และความสัมพันธ์ทางประสาทสัมผัส	6
2.2	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์บางชนิดที่ผลิตจากยีสต์ในระดับอุตสาหกรรม	17
2.3	พันธุ์สับปะรดที่มีในประเทศไทย และลักษณะที่สำคัญ	20
2.4	คุณค่าทางอาหารของสับปะรด (100 g ของสับปะรด)	21
3.1	สิ่งทดลองที่ใช้ในการศึกษาผลของระดับความสุกแก่ของสับปะรด และสายพันธุ์ยีสต์ต่อการผลิตไวน์สับปะรด	30
3.2	ปริมาณร้อยละของน้ำสับปะรดที่คั้นได้จากผลสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	33
3.3	ค่าความสว่าง (L) ค่าความเป็นสีแดง (a) ค่าความเป็นสีเหลือง (b) และความขุ่น (turbidity) ของน้ำสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	33
3.4	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) ปริมาณกรดทั้งหมด (TA) และพีเอชของน้ำสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	34
3.5	ผลของระดับความสุกแก่ของสับปะรด และสายพันธุ์ยีสต์ต่อคุณลักษณะด้านสี และความขุ่นของไวน์สับปะรดหลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส นาน 15 วัน	44
3.6	ผลของระดับความสุกแก่ของสับปะรด และสายพันธุ์ยีสต์ต่อคุณภาพทางเคมีของไวน์สับปะรดหลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส นาน 15 วัน	46
3.7	ผลของระดับความสุกแก่ของสับปะรด และสายพันธุ์ยีสต์ต่อคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของไวน์สับปะรดหลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส นาน 3 เดือน	49
4.1	ผลของระดับความสุกแก่ของสับปะรด และสายพันธุ์ยีสต์ต่อค่ากิจกรรมโบรมิเลน และโปรตีนที่เหลืออยู่ในไวน์สับปะรด	65

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
1	การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ($^{\circ}$ Brix) ในระหว่างการหมัก	91
2	การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ) ในระหว่างการหมักไวน์สับปะรด	92
3	การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการหมัก	93
4	การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีน (mg/ml) ในระหว่างการหมักไวน์สับปะรด	94
5	การเปลี่ยนแปลงฟร็อกโทสอะมิโนไนโตรเจนอิสระ (mg/l) ในระหว่างการหมักไวน์สับปะรด	95
6	การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (mg/l) ในระหว่างการหมักไวน์สับปะรด	96
7	การเปลี่ยนแปลงของ Relative activity (ร้อยละ) ในระหว่างการหมักไวน์สับปะรด	97
8	ผลการนับจำนวนยีสต์ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ YEPD (cfu/ml) ในระหว่างการหมักไวน์สับปะรด	98
9	ผลการนับจำนวนยีสต์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (cell/ml) ในระหว่างการหมักไวน์สับปะรด	99
10	ค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 595 นาโนเมตรของ BSA	105
11	ค่าการดูดกลืนแสง (A_{280}) ของไทโรซีน	108
12	การเตรียมเจล SDS-PAGE	111
13	องค์ประกอบของโปรตีนมาตรฐาน (low molecular weight ของ GE Healthcare)	112
14	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	115
15	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	115

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
16	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าพีเอชในน้ำส้มประรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	116
17	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณ FAN ในน้ำส้มประรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	116
18	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณโปรตีนในน้ำส้มประรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	117
19	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในน้ำส้มประรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	117
20	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความสว่าง (L) ในไวน์ส้มประรด	118
21	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความเป็นสีแดง (a) ในไวน์ส้มประรด	118
22	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าความเป็นสีเหลือง (b) ในไวน์ส้มประรด	119
23	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของความขุ่นในไวน์ส้มประรด	119
24	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในไวน์ส้มประรด	120
25	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณกรดทั้งหมดในไวน์ส้มประรด	120
26	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของค่าพีเอชในไวน์ส้มประรด	121
27	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ส้มประรด	121
28	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของ FAN ในไวน์ส้มประรด	122
29	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณโปรตีนในไวน์ส้มประรด	122
30	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในไวน์ส้มประรด	123
31	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคะแนนด้านลักษณะปรากฏของไวน์ส้มประรด	123

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
32	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคะแนนด้านกลิ่น ของไวน์สับปะรด	124
33	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคะแนนด้านรสชาติ ของไวน์สับปะรด	124
34	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคะแนนด้านรสชาติตกค้าง ในปากของไวน์สับปะรด	125
35	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคะแนนด้านความชอบรวม ไวน์สับปะรด	125
36	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคะแนนคะแนนรวมของ ไวน์สับปะรด	126

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ขั้นตอนการผลิตไวน์โดยทั่วไป	4
2.2	สมการการเปลี่ยนน้ำตาลในน้ำผลไม้เป็นแอลกอฮอล์โดยยีสต์	8
2.3	กระบวนการทำไวน์ผลไม้	9
2.4	ลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่ดูจากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า	16
2.5	ความสุกแก่แต่ละระดับของผลสับปะรด	23
3.1	สับปะรดที่ระดับความสุกแก่ต่างๆ ที่ใช้เป็นวัตถุดิบการทดลอง	32
3.2	ปริมาณของอัลฟาอะมิโนไนโตรเจนอิสระในน้ำสับปะรดที่เตรียมจากผลสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	35
3.3	จลนพลศาสตร์การหมักของน้ำสับปะรดด้วยยีสต์ 4 สายพันธุ์ เมื่อใช้น้ำหมักที่เตรียมจากผลสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	37
3.4	การเจริญเติบโตของยีสต์ 4 สายพันธุ์ เมื่อใช้น้ำหมักที่เตรียมจากผลสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	38
3.5	การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	40
3.6	การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	41
3.7	การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	42
3.8	ลักษณะของไวน์สับปะรดที่ทำจากสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ 3 ระดับ และสายพันธุ์ยีสต์จำนวน 4 สายพันธุ์หลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส นาน 3 เดือน	48
4.1	ค่ากิจกรรมของโบรมิเลนที่พบในสับปะรดที่ความสุกแก่ทั้ง 3 ระดับ	61

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.2	การเปลี่ยนแปลงของค่ากิจกรรมสัมพัทธ์ของโบรมิเลนในระหว่าง การหมักไวน์สับปะรดจากสับปะรดที่มีความสุกแก่ 3 ระดับ	63
4.3	ปริมาณโปรตีนเฉลี่ยที่พบในน้ำคั้นของผลสับปะรดที่ความสุกแก่ทั้ง 3 ระดับ และในไวน์สับปะรด	66
4.4	การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดจากผล ที่มีระดับความสุกแก่ 3 ระดับ	67
4.5	แผ่นเจล SDS-PAGE ของน้ำสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ทั้ง 3 ระดับ	68
4.6	แผ่นเจล SDS-PAGE ของไวน์สับปะรดที่มาจากสับปะรดความสุกแก่ ทั้ง 3 ระดับร่วมกับ <i>S. cerevisiae</i> E1 และ <i>S. cerevisiae</i> B1 หลังยู่ติ การหมัก 15 วัน	69
4.7	แผ่นเจล SDS-PAGE ของไวน์สับปะรดที่มาจากสับปะรดความสุกแก่ ทั้ง 3 ระดับร่วมกับ <i>T. delbrueckii</i> และ <i>K. thermotolerans</i> หลังยู่ติ การหมัก 15 วัน	70
ภาพผนวกที่		
1	จลนพลศาสตร์การหมักของไวน์สับปะรดที่ระดับความสุกแก่ต่างกัน 3 ระดับ	100
2	การเปลี่ยนแปลงปริมาณยีสต์ในระหว่างการหมักไวน์สับปะรดบนอาหาร เลี้ยงเชื้อ YEPD	101
3	กราฟมาตรฐาน BSA สำหรับการวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธีแบรดฟอร์ด	105
4	กราฟมาตรฐานไทโรซีนสำหรับการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของโปรตีเอส	108
5	ลักษณะแผ่นเจล SDS	112
6	ไร่สับปะรดที่เก็บตัวอย่างมาใช้ในการทดลอง	131
7	สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่ใช้ในการทดลอง	131
8	การปอกเปลือกสับปะรด	132
9	การหั่นผลสับปะรด	132
10	เนื้อสับปะรดที่ได้จากการหั่น	133
11	การบีบน้ำสับปะรดด้วยเครื่อง hydraulic press	133

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
12	การหมักน้ำสับปะรดในขวดแก้วขนาด 750 มิลลิลิตร	134
13	สภาวะการหมักไวน์สับปะรดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	134
14	การแยกส่วนใสไวน์สับปะรดหลังจากทำการหมัก 15 วัน	135
15	ผลิตภัณฑ์ไวน์จากสับปะรดที่ระดับความสุกแก่ทั้ง 3 ระดับ และยีสต์ 4 สายพันธุ์	135

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร

สัญลักษณ์และอักษรย่อ

FAN	=	free α -amino nitrogen
M2	=	maturity level 2 yellow eyes 10-35 %
M3	=	maturity level 3 yellow eyes 35-70 %
M4	=	maturity level 4 yellow eyes 71-80 %
NTU	=	nephelometric turbidity units
SDS-PAGE	=	sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis
TSS	=	total soluble solids
TA	=	total acidity
S1	=	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> E1
S2	=	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> B1
T	=	<i>Toluraspota delbrueckii</i>
K	=	<i>Kluyveromyces thermotolerans</i>
Kcal	=	kilocalorie
kDa	=	kilodalton
YEPD	=	yeast extract peptone dextrose
KMS	=	potassium metabisulfite
DAP	=	diammonium phosphate
cfu	=	colony forming unit