



รายงานการวิจัย

ชื่อโครงการวิจัย

ความคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มบางชนิด

Stability of Anthocyanin in Some Drinking Products

คณะผู้วิจัย

รุ่งทิพา

วงศ์ไพศาลฤทธิ์

ดวงฤทัย

ธำรงโชติ

วิภาวัน

จุลยา

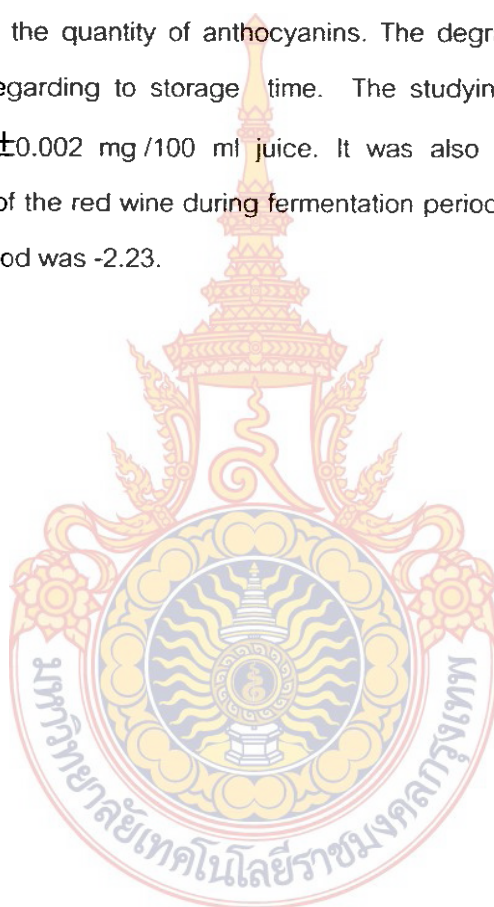
โครงการวิจัยทุนสนับสนุนงานวิจัยของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

งบประมาณแผ่นดิน ปี พ.ศ. 2551

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

ABSTRACT

This research aimed to studies stability of anthocyanin in Nam Daeng juice and wine Nam Daeng products. The studying of Nam Daeng juice, effect of heating on the stability of anthocyanin , effect of storage time on the quality. Num Daeng juice was extracted from frozen Num Daeng fruit. The juice had pH 2.8 ± 0.2 , total soluble solid 8 ± 0.4 Brix, anthocyanin content 32.250 ± 0.002 mg/100 ml juice and no vitamin C was found in the juice. The juice was stored in translucent glass bottles at 10°C for 7 weeks. During storage for 7 weeks anthocyanins decreased continuously. This showed that the storage time affected the quantity of anthocyanins. The degradation of anthocyanins trend to be higher regarding to storage time. The studying of wine Nam Daeng, anthocyanins 32.250 ± 0.002 mg /100 ml juice. It was also found that anthocyanin degradation quantity of the red wine during fermentation period was -1.81 and that one during the ageing period was -2.23.



บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์น้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์พร้อมดื่ม 25% และไวน์หนามแดง ในผลิตภัณฑ์น้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์พร้อมดื่ม 25% ได้ศึกษาผลของความร้อน ต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินในลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์พร้อมดื่ม 25% ผลการทดลองพบว่า น้ำคั้นมี pH 2.8 ± 0.2 ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 8 ± 0.4 °Brix แอนโทไซยานินทั้งหมด 32.250 ± 0.002 mg/100 ml สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 38.439 ± 0.011 mg/100 ml เมื่อนำน้ำคั้นที่ได้จากลูกหนามแดงมาผลิตเป็นน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% มาศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษา พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษามีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานิน การสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% มีค่าคงที่ของการสลายตัวมีแนวโน้มลดลง ซึ่งสามารถบอกได้ว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ การสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสง ขนาด 15 ml แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์ โดยที่ค่า k มีแนวโน้มลดลงทุกสัปดาห์ ค่า ΔE^* และค่า ΔH^* ของน้ำลูกหนามแดงเพิ่มขึ้นตลอดเวลาระหว่างการเก็บรักษา แสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสีเมื่อเทียบกับตัวอย่างเริ่มต้น รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของเจดสีในระหว่างการเก็บรักษาด้วย ด้านผลิตภัณฑ์ไวน์หนามแดงพบว่ามีแอนโทไซยานินทั้งหมด 32.250 ± 0.002 mg/100 ml และมีปริมาณการสลายตัวของแอนโทไซยานินในระหว่างการหมัก เท่ากับ -1.81 และ -2.23 ในระหว่างการบ่ม และพบว่าระยะเวลาในการหมักและแสงสว่างในระหว่างการบ่มไวน์ในขวดพลาสติกใสมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานิน การสลายตัวของแอนโทไซยานินตลอดเวลาการหมักและบ่ม และค่า ΔE^* มีแนวโน้มลดลง แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงของสีเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า และค่า ΔH^* ของไวน์หนามแดงเพิ่มขึ้นแสดงให้เห็นว่าในระหว่างการหมักไวน์ และระหว่างการบ่มไวน์ มีการเปลี่ยนแปลงของเจดสีเกิดขึ้น ค่า C^* ของไวน์หนามแดงมีค่าลดลง เป็นผลมาจากการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานิน ทำให้สีแดงของผลิตภัณฑ์ลดลงซึ่งสัมพันธ์ กับ TCD ที่ลดลงเช่นกัน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ
งบประมาณแผ่นดินปี 2551 ขอขอบคุณผกามาส มังคลรังษี , ศิริประภา พุ่มสหาย
ณัฐจิณี เลหาปิยะวิสุทธิ , รัศมี แสงอรุณ , สุชาดา คงความสุข และกนกรัตน์ บุญเชิด ศึกษา
สาขาอาหารและโภชนาการ - พัฒนาลิขิตภัณฑ์ที่ให้ความช่วยเหลือจนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไป
ด้วยดี

คณะผู้วิจัย

21 พฤษภาคม 2551



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	i
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ii
กิตติกรรมประกาศ.....	iii
สารบัญ.....	iv
สารบัญภาพ.....	v
สารบัญตาราง.....	vii
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	1
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	1
บทที่ 2 เอกสารและงานที่เกี่ยวข้อง.....	2
2.1 รงควัตถุ.....	2
2.2 แอนโทไซยานิน.....	3
2.3 หนามแดง.....	19
2.4 น้ำผลไม้.....	20
2.5 ไวน์.....	23
บทที่ 3 วิธีดำเนินงาน.....	32
3.1 วัสดุดิบ.....	32
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	32
3.3 สถานที่ในการทดลองและเก็บข้อมูล.....	34
3.4 ระเบียบวิธีวิจัย.....	35
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	44
4.1 ผลการศึกษาคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์น้ำลูกหนามแดง พร้อมดื่มพาสเจอร์ไรส์.....	44
4.2 ผลการศึกษาคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์ไวน์หนามแดง.....	54

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	44
4.1 ผลการศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์น้ำสูกหนามแดง พร้อมดื่มพาสเจอร์ไรส์.....	44
4.2 ผลการศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์ไวน์หนามแดง.....	54
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	60
บรรณานุกรม.....	61
ภาคผนวก.....	63



สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 สูตรโครงสร้างของน้ำตาลบางชนิดที่พบในโมเลกุลของแอนโทไซยานิน.....	4
2.2 ลักษณะของลูกและดอกหนามแดง.....	19
3.1 กรรมวิธีการผลิตน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์พร้อมดื่ม.....	36
3.2 กรรมวิธีการผลิตไวน์หนามแดง.....	43
4.1 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อต่อปริมาณแอนโทไซยานิน.....	46
4.2 ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส.....	48
4.3 ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในน้ำลูกหนามแดงที่บรรจุในขวด แก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เมื่อ TAc _y คือปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในน้ำลูกหนามแดงหลังจาก เก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ และ TAc _{y0} คือปริมาณแอนโทไซยานิน เริ่มต้นในน้ำลูกหนามแดงก่อนการเก็บรักษา...../.....	49
4.4 กราฟแสดงปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในไวน์หนามแดง.....	56
4.5 กราฟแสดงดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานินในไวน์หนามแดง.....	57
4.6 กราฟแสดงค่าความเข้มข้นในไวน์หนามแดง.....	58
4.7 กราฟแสดงปริมาณสีฟอลิเมอร์ในไวน์หนามแดง.....	58
4.8 ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในไวน์หนามแดงเมื่อ TAc _y คือปริมาณแอนโทไซยานิน ในไวน์หนามแดงหลังหมัก และก่อนบรรจุขวดและ TAc _{y0} คือปริมาณแอนโทไซยานิน ในไวน์หนามแดงก่อนหมัก.....	59

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แอนโทไซยานินดินในผักและผลไม้บางชนิด.....	6
2.2 แอนโทไซยานินที่พบในผักและผลไม้บางชนิด.....	7
2.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับสีของแอนโทไซยานิน.....	11
4.1 คุณภาพน้ำคั้นที่ได้จากผลลูกหนามแดง.....	44
4.2 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการพาสเจอร์ไรส์ต่อ คุณภาพของน้ำลูกหนามแดง 25%	45
4.3 ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา.....	48
4.4 ค่าคงที่ของการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ในน้ำลูกหนามแดง พาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา.....	49
4.5 ดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา.....	50
4.6 ความเข้มข้นทั้งหมดในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุ ในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา.....	50
4.7 ปริมาณสีเพอร์เมอริกในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุ ในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา.....	51
4.8 ค่าสี L* ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้ว โปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา.....	51
4.9 ค่าสี a* ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้ว โปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา.....	52
4.10 ค่าสี b* ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้ว โปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา.....	52

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.11	ค่าสี ΔE^* ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้ว ไปรังแสงระหว่างการเก็บรักษา.....	53
4.12	ค่าสี C^* ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้ว ไปรังแสงระหว่างการเก็บรักษา.....	53
4.13	ค่าสี ΔH^* ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้ว ไปรังแสงระหว่างการเก็บรักษา.....	54
4.14	ผลของระยะเวลาในการหมักและบ่มต่อคุณภาพไวน์หนามแดง.....	55
4.15	ผลของระยะเวลาในการหมักและบ่มต่อค่าสีไวน์หนามแดง.....	55



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

สีเป็นสมบัติทางกายภาพอย่างหนึ่งของอาหาร ทั้งอาหารที่ได้จากธรรมชาติและอาหารที่แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพราะสีเป็นปัจจัยสำคัญที่ผู้บริโภคใช้ในการตัดสินใจเลือกซื้ออาหารร่วมกับลักษณะปรากฏอื่นๆ และการยอมรับสีอาหารของผู้บริโภคจะแตกต่างกันตามฐานะทางเศรษฐกิจและสังคมที่แตกต่างกันด้วย นอกจากนั้นสีของอาหารยังใช้ชี้บ่งถึงการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่อาจเกิดขึ้นในอาหารได้ด้วยเช่นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลและการไหม้ของน้ำตาลหรือการเกิดปฏิกิริยาการเมลแลนีเซชัน คุณภาพของอาหารบางชนิดใช้ชี้บ่งด้วยสี เช่น สีของเนื้อสัตว์และปลาแชลมนอน ระหว่างการเก็บรักษาปริมาณของรงควัตถุจะเพิ่มหรือลดลงขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิในการเก็บรักษา ความแก่และพันธุ์ เป็นต้น

ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดทดลองหาความคงตัวของแอนโทไซยานินซึ่งเป็นรงควัตถุที่ให้สีแดงในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มบางชนิด เนื่องจากมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มบางชนิด ได้แก่ น้ำลูกหนามแดงพร้อมดื่มพาสเจอร์ไรส์และไวน์ลูกหนามแดง

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มบางชนิด ได้แก่ น้ำลูกหนามแดงพร้อมดื่มพาสเจอร์ไรส์และไวน์ลูกหนามแดง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบวิธีการรักษาความคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์น้ำลูกหนามแดงพร้อมดื่มพาสเจอร์ไรส์และไวน์ลูกหนามแดง

1.4.2 เป็นข้อมูลพื้นฐานในการในการวิจัยขั้นต่อไปเพื่อรักษาความคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์น้ำลูกหนามแดงพร้อมดื่มพาสเจอร์ไรส์และไวน์ลูกหนามแดง

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 รงควัตถุ

สี หมายถึง สีที่ปรากฏเมื่อคนเรามองวัตถุที่มีสี เช่น สีแดง สีเขียว สีน้ำเงินหรือสีเหลือง เป็นต้น ส่วนสารสี (colorant) เป็นสารเคมีใดๆ ทั้งที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ หรือเป็นสารสังเคราะห์ที่ให้สีออกมา

อาหารที่มาจากพืชและสัตว์ภายในเซลล์และเนื้อเยื่อของพืชและสัตว์ก็ให้สีต่างกัน ซึ่งเกิดขึ้นได้เนื่องจากมีสารที่ให้สี เรียกว่า สารสี หรือ รงควัตถุ (pigment) ซึ่งมีอยู่ในอาหารตามธรรมชาติ เช่น สีเขียวของผักใบเขียวเนื่องจากมีคลอโรฟิลล์ หรือสีเหลือง สีส้มและสีแดงเนื่องจากสีของแคโรทีนอยด์ เป็นต้น ดังนั้นสีของอาหารส่วนใหญ่จึงเป็นสารสีที่ได้มาจากธรรมชาติ

สีเป็นสมบัติทางกายภาพอย่างหนึ่งของอาหาร ทั้งอาหารที่ได้จากธรรมชาติและอาหารที่แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพราะสีเป็นปัจจัยสำคัญที่ผู้บริโภคใช้ในการตัดสินใจเลือกซื้ออาหารร่วมกับลักษณะปรากฏอื่นๆ และการยอมรับสีอาหารของผู้บริโภคจะแตกต่างกันตามฐานะทางเศรษฐกิจและสังคมที่แตกต่างกันด้วย นอกจากนั้นสีของอาหารยังใช้ชี้บ่งถึงการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่อาจเกิดขึ้นในอาหารได้ด้วย เช่น ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลและการไหม้ของน้ำตาล หรือการเกิดปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชัน คุณภาพของอาหารบางชนิดใช้ชี้บ่งด้วยสี เช่น สีของเนื้อสัตว์และปลาแชลมอน

สำหรับอาหารประเภทที่มีลักษณะเป็นของเหลวใส เช่น น้ำมันพืชและเครื่องดื่มบางชนิดสีที่ละลายอยู่มีสมบัติยอมให้แสงผ่านได้ แต่อาหารชนิดที่มีสีขาวขุ่นหรือบางชนิดอาจทึบแสง เช่น สีของน้ำมัน สีที่เกิดขึ้นเนื่องจากการสะท้อนแสง

รงควัตถุที่มีอยู่ในอาหารตามธรรมชาติที่ได้จากพืชสามารถจำแนกออกตามสมบัติของการละลายได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มที่ละลายได้ในน้ำมันและตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ คลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์
2. กลุ่มที่ละลายได้ในน้ำ ได้แก่ แอนโทไซยานินและฟลาโวนอยด์

2.2 แอนโทไซยานิน

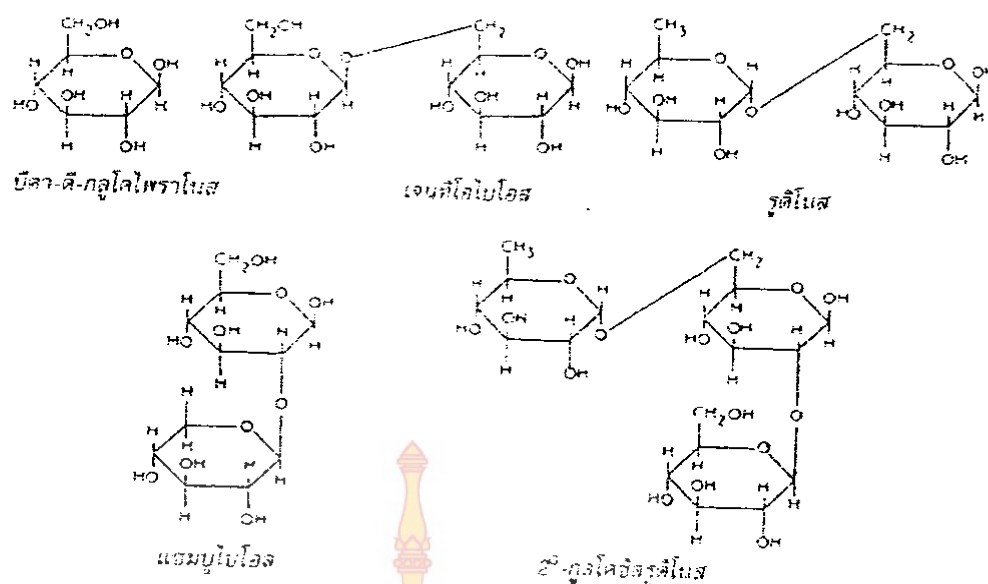
แอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุที่พบอยู่ใน cell sap ของพืช อยู่ในรูปของไกลโคไซด์ ให้สีแดง น้ำเงิน และม่วง ในผัก ผลไม้ และดอกไม้ชนิดต่าง ๆ แอนโทไซยานินที่สกัดออกมาได้ครั้งแรกจากดอกกุหลาบเมื่อปี พ.ศ. 2456 (ค.ศ. 1913) คือ ไซยานิดิน -3,5-ไดกลูโคไซด์ (cyaniding -3,5-diglucoside) ปัจจุบันพบว่าแอนโทไซยานินประมาณ 120 ชนิด

ในอดีตรงควัตถุสามารถถูกแยกออกมาได้เฉพาะชนิดที่มีปริมาณมาก ๆ เท่านั้น ไม่สามารถแยกรงควัตถุชนิดที่มีปริมาณน้อย หรือมีหลายชนิดผสมรวมกันเป็นสารประกอบเชิงซ้อนผสมได้ จนกระทั่งต่อมาได้มีการพัฒนาเทคนิคและวิธีการสกัดแยกสารด้วย paper chromatography จึงทำให้สามารถแยกรงควัตถุทุกชนิดที่มีปริมาณน้อย ๆ ได้

เนื่องจากโมเลกุลของแอนโทไซยานินเป็นไกลโคไซด์ ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่เป็นน้ำตาลและส่วนที่เป็นอะไกลโคน (aglycone) เรียกว่า แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) ซึ่งแยกออกจากกันได้โดยการไฮโดรไลซิสด้วยกรด ในเนื้อเยื่อพืชจะไม่พบอะไกลโคนที่อยู่ในรูปอิสระ จะพบเฉพาะที่อยู่ในรูปไกลโคไซด์ คือ รวมกับน้ำตาลเป็นเอสเทอร์เท่านั้น

น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของแอนโทไซยานิน จะมี 1, 2 หรือ 3 โมเลกุลก็ได้ และเป็นไปได้ทั้งโมโน - ไค - และไตรแซ็กคาไรด์ โมเลกุลของน้ำตาลส่วนใหญ่จะเกาะกับหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลของแอนโทไซยานิดิน โดยเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันที่ตำแหน่ง 3 ถ้าเป็นไดกลูโคไซด์จะเกาะที่ตำแหน่ง 3 และ 5 หรือ 3 และ 7 ของหมู่ไฮดรอกซิล

น้ำตาลโมโนแซ็กคาไรด์ที่พบ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส กาแล็กโทส แรมโนส อะราบินอส และไซโรส สำหรับน้ำตาลไดแซ็กคาไรด์ที่พบ ได้แก่ รูทีโนส (rutinose หรือ L-rhamnosyl ($\alpha 1 \rightarrow 6$) D-glucose) เจนทิโอไบโอส (gentiobiose หรือ D-glucosyl ($\beta 1 \rightarrow 6$) D-glucose) โซฟอโรส (sophorose หรือ D-glucosyl ($\beta 1 \rightarrow 2$) D-glucose) และแซมบูไบโอส (sambubiose หรือ D-xulosyl ($\beta 1 \rightarrow 2$) D-glucose) สูตรโครงสร้างของน้ำตาลบางชนิดที่พบในโมเลกุลของแอนโทไซยานิน ดังแสดงในภาพที่ 2.1

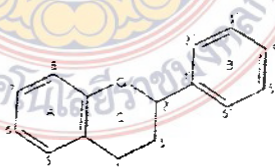


ภาพที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของน้ำตาลบางชนิดที่พบในโมเลกุลของแอนโทไซยานิน

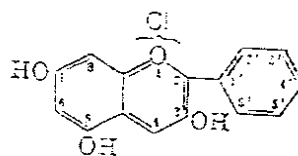
ที่มา : GROSS, J. (1987) อ้างโดยนิธิยา (2545)

โมเลกุลของน้ำตาลจะเกาะอยู่กับส่วนของแอนโทไซยานิดิน ฟลาโวน (flavone) ฟลาโวนอล (flavonol หรือฟลาวาโนน (flavanones) ด้วยพันธะไกลโคไซด์ นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่าในโมเลกุลของแอนโทไซยานินบางชนิดมีสารอื่นเป็นองค์ประกอบรวมอยู่ด้วย เช่น กรดอินทรีย์ และโลหะหนัก (เหล็ก อะลูมิเนียม และแมกนีเซียม)

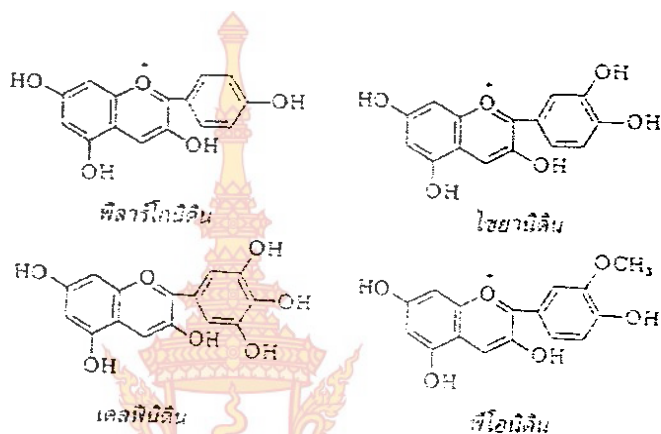
โครงสร้างพื้นฐานในโมเลกุลของแอนโทไซยานิน ประกอบด้วยวงแหวนเบนโซไพแรน (benzopyran) 2 วงต่อกับวงแหวนฟีนิล (phenyl ring) มีสูตรโครงสร้างดังนี้



แอนโทไซยานินส่วนใหญ่เป็นอนุพันธ์ของ 3,5,7-ไตรไฮดรอกซีฟลาวิเลี่ยนคลอไรด์ (3,5,7-trihydroxyflavylium chloride) โมเลกุลของน้ำตาลจะเอสเทอร์ไฟด์กับหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3



สารประกอบแอนโทไซยานิดินที่พบมากและอยู่ในรูปของออกซิเนียมไอออน (oxonium ion) คือ ออกซิเจนอะตอมที่ประจุบวก ได้แก่ ไซยานิดิน (cyaniding) พัลลาโณนิน (pelargonidin) เดลฟินิดิน (delphinidin) และพีโอนิดิน (peonidin) ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังนี้



ที่มา : DeMAN, J.M. (1995), AURAND, L.W. และ WOODS, A.E. (1973) อ้างโดย นิธิยา (2545)

ตัวอย่างของแอนโทไซยานิดินที่พบเป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของแอนโทไซยานินในผักและผลไม้บางชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แอนโทไซยานินในผักและผลไม้บางชนิด

ชนิดและผักและผลไม้	แอนโทไซยานิน
แครนเบอร์รี่	พีโอนิน
แอปเปิล	ไซยานิดิน
แบลคเคอร์แรนต์	ไซยานิดิน และเดลฟินิดิน
บลูเบอร์รี่	ไซยานิดิน เดลฟินิดิน มอลวิดิน พิกูนิน และพีโอนิน
กำห่อปลีแดง	ไซยานิดิน
เชอร์รี่	ไซยานิดิน และพีโอนิน
ส้ม	ไซยานิดิน และเดลฟินิดิน
ท้อ	ไซยานิดิน
พลัม	ไซยานิดิน และพีโอนิน
เรดิส	ฟิลาโรโกนิน
ราสพ์เบอร์รี่	ไซยานิดิน
สตอว์เบอร์รี่	ฟิลาโรโกนิน และไซยานิดิน เล็กน้อย
องุ่น	มัลวิดิน เดลฟินิดิน ไซยานิดิน พีโอนิน พิกูนิน และฟิลาโรโกนิน
มะเขือม่วง	เดลฟินิดิน

ที่มา: DeMAN, J.M. (1990) , AURAND, L.W. และ WOODS, A.E. (1973) อ้างโดยนิธิยา (2545)

สำหรับแอนโทไซยานินที่พบมากในพืชชนิดต่าง ๆ นั้น มีประมาณ 16 ชนิด และมีเพียง 6 ชนิดเท่านั้นที่พบได้ทั่ว ๆ ไปในผักและผลไม้ ตัวอย่างของแอนโทไซยานินในผลไม้บางชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2

สีของแอนโทไซยานินถูกควบคุมด้วยปัจจัยที่สำคัญ 2 อย่างคือ

1. โครงสร้าง หากในโครงสร้างวงแหวนฟีนอลมีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล หรือหมู่เมทอกซิล ($-OCH_3$) เพิ่มขึ้น จะมีผลต่อสีแอนโทไซยานิน เช่น การเพิ่มหมู่ไฮดรอกซิลให้มากขึ้นจะทำให้มีสีเข้มขึ้น และสีจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินมากขึ้นด้วย และการเพิ่มหมู่เมทอกซิลแทนที่หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3' และ 5' จะทำให้มีสีแดงเพิ่มขึ้น

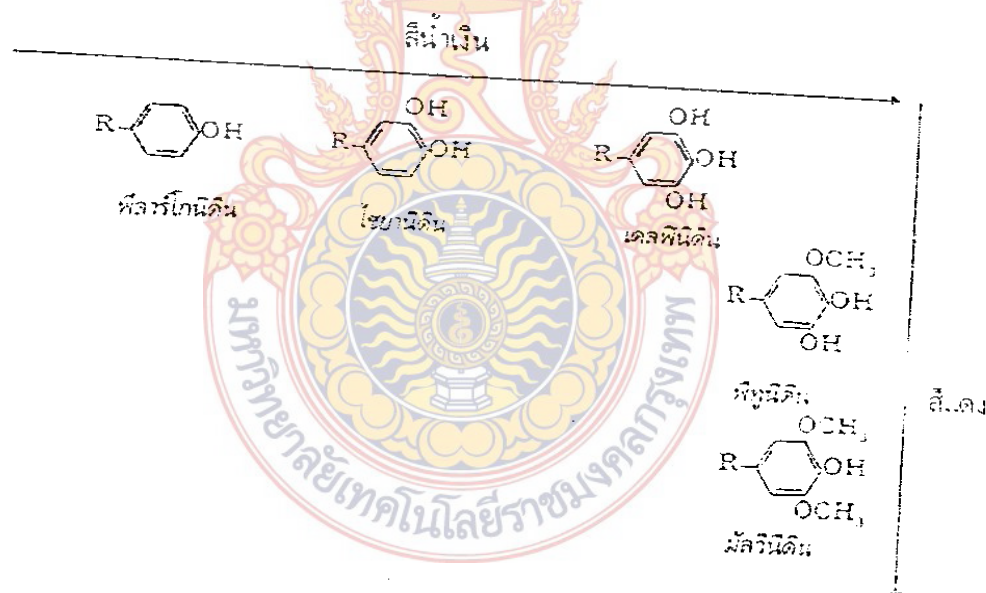
ตารางที่ 2.2 แอนโทไซยานินที่พบในผักและผลไม้บางชนิด

ผักและผลไม้	แอนโทไซยานิน
แอปเปิล	Cyanidin-3-galactoside
	Cyanidin-3-arabinoside
เชอร์รี่	Cyanidin-7-arabinoside
	Cyanidin-3-rutinoside
	Cyanidin-3-glucoside
	Cyanidin-3-gentiobioside
แครนเบอร์รี่	Peonidin-3-glucoside
	Peonidin-3-rutinoside
	Cyanidin-3-arabinoside
	Peonidin-3-galactoside
	Cyanidin-3-arabinoside
องุ่น	Peonidin-3-arabinoside
	Delphinidin-3-arabinoside
	Petunidin-3-glucoside
	Malvidin-3-glucoside
	Malvidin-3, 5-diglucoside
	Cyanidin-3-glucoside
	Peonidin-3-glucoside
	Kaempferal-3-glucoside
	Quercetin-3-glucoside
	Myricetin-3-glucuronoside
	Delphinidin-3-glucoside
สตอเบอรี่	Peonidin-3, 5-diglucoside
	Quercetin-3-glucoside
	Kaempferal-3-glucoside
	Pelargonidin-3-glucoside
แบล็คเคอร์แรนต์	Cyanidin-3-glucoside
	Cyanidin-3-glucoside
	Cyanidin-3-rutinoside
	Delphinidin-3-glucoside
	Delphinidin-3-rutinoside

ตารางที่ 2.2 แอนโทไซยานินที่พบในผักและผลไม้บางชนิด (ต่อ)

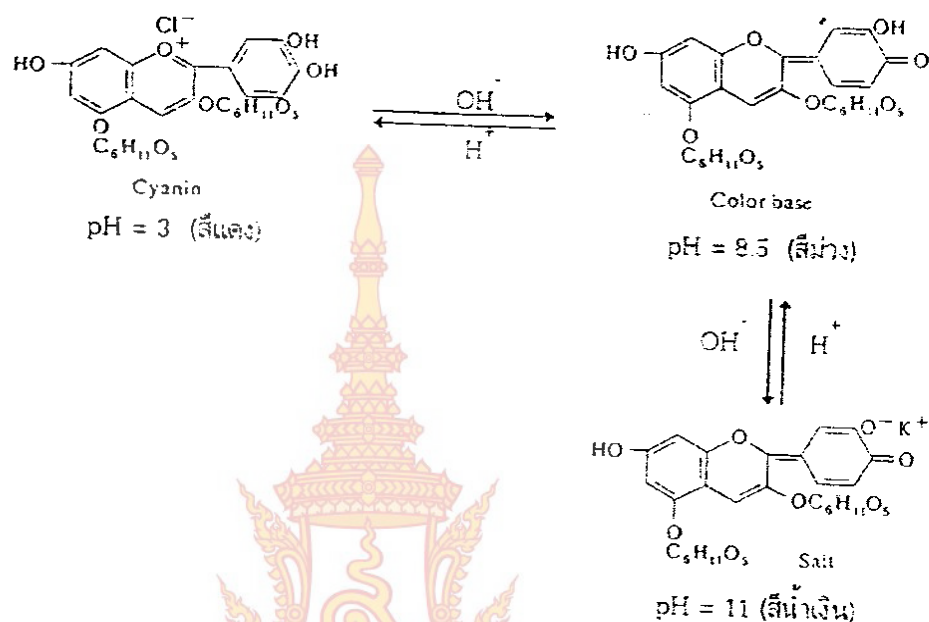
ผักและผลไม้	แอนโทไซยานิน
ราสพ์เบอร์รี่	Cyanidin-3-glucoside Cyanidin-3, 5-diglucoside Cyanidin-3-diglucoside
หน่อไม้ฝรั่ง	Cyanidin-3-rhamnoglucoside-5-glucoside Cyanidin-3, 5-diglucoside Cyanidin-5-glucoside
มะเขือส้มม่วง	Delphinidin-3, 5-diglucoside Delphinidin-3-glucoside Delphinidin-3-diglucoside-5-glucoside Delphinidin-3-caffeoyldiglucoside-5-glucoside

ที่มา : AURAND ,L.W.และ WOODS ,A.E.(1973) อ้างโดยนิตยา (2545)



ที่มา : DeMAN , J.M.(1990) อ้างโดยนิตยา (2545)

2. พีเอช พีเอชของสารละลายที่แอนโทไซยานินละลายอยู่ มีผลต่ออัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ทำให้สีเปลี่ยนไปได้ ตัวอย่างเช่น ไซยานินซึ่งเป็นสีแดงของเชอร์รี่ และแครนเบอร์รี่ จะเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำเงิน เมื่อพีเอชเปลี่ยนจาก 3 เป็น 11 และโครงสร้างของโมเลกุลมีการเปลี่ยนแปลงดังนี้

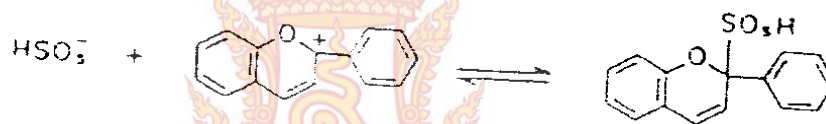


ที่มา : AURAND, L.W. และ WOODS, A.E. (1973) อ้างโดยนิธิยา (2545)

การเปลี่ยนแปลงพีเอชยังอาจเกิดขึ้นเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีระของผักและผลไม้ เช่น ระหว่างการสุกของผลไม้จะมีการเปลี่ยนแปลงพีเอช มีผลทำให้สีของผลไม้เปลี่ยนแปลงไปได้ โดยเฉพาะผลไม้จำพวกเบอร์รี่ การเปลี่ยนสีเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของพีเอชยังขึ้นอยู่กับเกลือแอนโทไซยานินด้วยว่าเป็นโพแทสเซียมไอออน โซเดียมไอออน แคลเซียมไอออน หรือแอมโมเนียมไอออน

รงควัตถุแอนโทไซยานินที่อยู่ในผักและผลไม้ จะถูกทำลายได้ง่ายในกระบวนการแปรรูปอาหาร ตัวอย่างเช่น การใช้อุณหภูมิสูง ความเข้มข้นของน้ำตาลสูง พีเอช กรดอะมิโน กรดแอสคอร์บิก และภาวะที่มีออกซิเจน จะมีผลเร่งอัตราเร็วของการสลายตัวของแอนโทไซยานินให้เกิดขึ้น เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาcondensation ของกับสารประกอบเหล่านี้ ตัวอย่างเช่น แยมสตรอเบอร์รี่ซึ่งมีสีแดง เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ปี จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง เนื่องจากมีสารฟลอบาเฟน (phlobaphen) เกิดขึ้นระหว่างการเก็บรักษา

แอนโทไซยานินยังสามารถรวมตัวกับโลหะได้เป็นสีม่วงหรือสีเทา ซึ่งมักจะเกิดขึ้นเมื่อบรรจุอาหารลงในกระป๋องที่มีดีบุก นอกจากนั้นสีของแอนโทไซยานินจะถูกฟอกสีให้จางลงได้ เมื่อมีซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเนื่องจากมีแอนโทไซยานินคาร์โบเนียมไอออน (anthocyanin carbonium ion, R⁺) เกิดขึ้น และไปทำปฏิกิริยากับไบซัลไฟต์ทำให้เกิดเป็น chromen-2 (หรือ 4) -sulfonic acid ซึ่งไม่มีสี แต่มีโครงสร้างและสมบัติคล้าย anthocyanin carbinol base ปฏิกิริยาของซัลไฟต์กับแอนโทไซยานินคาร์โบเนียมไอออน มีดังนี้



ที่มา : DeMAN, J.M. (1990) อ้างโดยนิธิยา (2545)

เนื่องจากปัจจุบันสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกาได้ยกเลิกการใช้สีอาหารสังเคราะห์หลายชนิด ทำให้มีการนำเอาแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสีธรรมชาติมาใช้ประโยชน์เป็นสีอาหารมากขึ้น ดังนั้นการศึกษาสมบัติทางเคมีของแอนโทไซยานิน เพื่อให้เข้าใจกลไกของการเสื่อมคุณภาพของแอนโทไซยานินจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง

แอนโทไซยานินสลายตัวได้อย่างช้า ๆ และเป็นไปอย่างต่อเนื่องในระหว่างการเก็บรักษาผักและผลไม้ที่แปรรูปด้วยความร้อน ซึ่งกลไกบางอย่างยังไม่เข้าใจได้อย่างสมบูรณ์ แต่ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการสลายตัวของแอนโทไซยานิน คือ พีเอช ออกซิเจน กรดแอสคอร์บิก และโลหะไอออน (นิธิยา, 2545)

2.2.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแอนโทไซยานิน

การใช้แอนโทไซยานินในอาหารพบว่า แอนโทไซยานินมีการเปลี่ยนแปลงระดับสีได้ง่าย เนื่องจากผลของการขาดอิเล็กตรอนของโมเลกุลแอนโทไซยานิน จึงทำให้โครงสร้างหลักซึ่งเป็นเกลือฟลาวิลเลียมมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยามาก การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับสี การเปลี่ยนแปลงนี้อาจเกิดจากสภาวะต่างๆ ในกระบวนการแปรรูปและในการเก็บรักษาลักษณะอาหาร (กนกกรส คงหอม, 2547) ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแอนโทไซยานิน ได้แก่

2.2.2.1 ค่าความเป็นกรด - เบส (pH)

แอนโทไซยานินมีสมบัติของการบอกค่า pH (pH indicator) อย่างคร่าวๆ ได้ แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงสีไปตามค่า pH ต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับสีของแอนโทไซยานิน

pH	สี
1.0	แดง
4.0	น้ำเงินแดง
6.0	ม่วง
8.0	น้ำเงิน
12.0	เขียว
13.0	เหลือง

ที่มา : เสกสรร วงศ์ศิริ (2546)

นอกจากการเปลี่ยนแปลงระดับสีตามค่า pH แล้ว ค่าความเข้มสี (color intensity) ยังแปรผันตามค่า pH ด้วย กล่าวคือ ที่ pH เท่ากับ 1.0 แอนโทไซยานินมีความเข้มสีมากที่สุด และลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้น (กนกกรส คงหอม, 2547)

นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อแอนโทไซยานินถูกสังเคราะห์ขึ้นแล้ว การที่จะปรากฏเป็นสีแดง สีนํ้าเงิน หรือสีม่วงจะขึ้นกับสภาวะการเป็นกรด - เบส ของผักหรือผลไม้ นั่นเป็นสำคัญ ผักหรือผลไม้ใดมีค่า pH ต่ำ แอนโทไซยานินก็จะมีสีแดง แต่ถ้าวกหรือผลไม้มีค่า pH ต่ำ แอนโทไซยานินจะมีสีม่วงหรือสีนํ้าเงิน (กนกมณฑล ศรศรีวิชัย, 2523)

2.2.2.2 อุณหภูมิ

อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำผลไม้จะเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาลดลงเพิ่มขึ้น ดังเช่น การให้ความร้อนกับน้ำเม่า 25% ที่อุณหภูมิสูงขึ้นเป็นเวลานานขึ้น ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในน้ำเม่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าความร้อนในการพาสเจอร์ไรส์มีผลต่อการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำเม่า โดยความร้อนจะทำให้สมดุลระหว่าง form ต่างๆ ของแอนโทไซยานินในน้ำเม่าเปลี่ยนไป (เสกสรรค์ศิริ, 2546)

การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมีผลต่อค่าครึ่งชีวิต (half life; เวลาที่ใช้ไปเพื่อให้ความเข้มข้นของแอนโทไซยานินเดิม ลดลงครึ่งหนึ่งของค่าเริ่มต้น) ของแอนโทไซยานิน เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินจะมีค่าลดลง (กนกกรส คงหอม, 2546)

2.2.2.3 ประจุบวก

ผลจากประจุบวกบางชนิดโดยเฉพาะ divalent และ divalent metal ion จะทำให้ค่าความยาวคลื่นสูงสุดของการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเกิด blueing ของสีทำให้โมเลกุลของสีตกตะกอน การมีอนุโมลแมกนีเซียม เหล็ก อะลูมิเนียม และโพแทสเซียม อยู่ในโครงสร้างของแอนโทไซยานิน จะทำให้ผักหรือผลไม้ มีสีค่อนข้างดำทางสีน้ำเงินมากยิ่งขึ้น (กนกกรส, 2523) ดังนั้นจึงควรหลีกเลี่ยงไม่ให้แอนโทไซยานินสัมผัสกับโลหะบางชนิด เช่น เหล็ก ตะกั่ว ทองแดง และเหล็กผสม โดยเฉพาะกรรมวิธีการผลิตกระป๋องที่มีการให้ความร้อน และมีความเป็นกรดร่วมด้วย จะทำให้เกิดการรวมตัวกันระหว่างโลหะดังกล่าวกับ phenol group ของแอนโทไซยานินที่มีอยู่ในผักและผลไม้ที่นำมาผ่านกรรมวิธีการผลิต ดังนั้น ควรเคลือบกระป๋องด้วยดีบุกก่อนนำไปใช้บรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร

2.2.2.4 ความร้อนและแสงสว่าง

แอนโทไซยานินมีสมบัติในการทนความร้อนได้ดี การเกิด acylation กับน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของแอนโทไซยานิน ทำให้แอนโทไซยานินมีสมบัติในการทนความร้อนและแสงสว่างได้ดีขึ้นจะเห็นได้จากการปลูกกะหล่ำปลีสีแดงที่ประกอบไปด้วย monoacylated และ diacylated anthocyanins ซึ่งได้รับแสงจากดวงอาทิตย์ตลอดวัน แสดงให้เห็นว่ากะหล่ำปลีสีแดงสามารถทนความร้อนและแสงสว่างได้ดีมาก และผลิตภัณฑ์ที่มีแอนโทไซยานินจะไม่มีผลกระทบใดๆ เมื่อได้รับแสงสว่าง

2.2.2.5 ออกซิเจน

แอนโทไซยานินมีแนวโน้มในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของก๊าซออกซิเจนเพิ่มขึ้น อัตราของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับ pH ของสารละลายในผลิตภัณฑ์อาหาร ค่าของอุณหภูมิ และค่าความเข้มข้นของแอนโทไซยานิน แต่แอนโทไซยานิน มีอัตราการออกซิไดส์ช้าลง เมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นของเหลว และมีความเสถียรสูงสุด เมื่อมีค่า Water activity (a_w : ความสามารถในการละลายมีค่ามากที่สุดเท่ากับ 1) เท่ากับ 0.63 – 0.79

2.2.2.6 โปรตีน ได้แก่ เจลาติน (gelatin)

สามารถทำปฏิกิริยากับแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากองุ่นเกิดเป็นตะกอนหรือทำให้เกิดความขุ่น แต่ปฏิกิริยานี้ส่วนใหญ่จะเกิดจากสารประกอบชนิดอื่นที่ไม่ใช่สารสี ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก มากกว่าเกิดจากแอนโทไซยานิน ซึ่งมักจะสร้างพันธะกับสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ เช่น กรดซิตริก วิตามินซี และแป้ง (starch) ทั้งนี้เนื่องจากแอนโทไซยานินที่มีความบริสุทธิ์เท่านั้นที่จะทำปฏิกิริยากับเจลาตินได้

2.2.2.7 เอนไซม์

เอนไซม์ในกลุ่มแอนโทไซยานเนสที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ โกลโคซิเดส และ พอลิฟีนอลออกซิเดส เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานิน โดยโกลโคซิเดสจะทำลายพันธะของแอนโทไซยานินที่เชื่อมต่อน้ำตาล และ aglycone (aglycone ที่ได้นี้ไม่เสถียรและจะเปลี่ยนรูปไปเป็นอนุพันธ์ที่ไม่มีสี) ส่วนพอลิฟีนอลออกซิเดส จะเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอนโทไซยานินที่ phenol group ได้สารผลิตภัณฑ์คือ O-diphenols ซึ่งจะรวมตัวกับโมเลกุลอื่นๆ เช่น หมูอะมิโน และโปรตีน เกิดเป็นสารประกอบควิโนน ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีน้ำตาล ผลจากการใช้เอนไซม์บางชนิดในการปรับปรุงคุณภาพน้ำผลไม้ ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้แอนโทไซยานินในชาชาตินั้น มีสีซีดจางได้ ดังนั้นในการผลิตน้ำผลไม้ มักจะมีการลดการทำงานของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส โดยเติมสารจำพวก bisulfite, dithi-othreitol, phenylhydrazine และ cysteine ลงไปในส่วนผสมที่ใช้ในกระบวนการผลิต

2.2.2.8 น้ำตาล

การสังเคราะห์แอนโทไซยานินในพืชจำเป็นต้องอาศัยน้ำตาลอิสระ (free sugar) เป็นสารตั้งต้น โดยพบว่าปริมาณน้ำตาลและแอนโทไซยานินจะมีความสัมพันธ์กันอย่างชัดเจน จากการวัดการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลและแอนโทไซยานิน ที่บริเวณผลของผลองุ่นในช่วงที่กำลังพัฒนาเป็นผลสุก พบว่ามีการสะสมน้ำตาลเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก ก่อนที่จะปรากฏสีของแอนโทไซยานิน นอกจากนี้ยังพบว่า ก่อนการเกิดสีแดงของผลลึ้นจะมีการสะสมของน้ำตาล rhamnose ที่บริเวณเปลือกเป็นจำนวนมาก (กนกพรส คงหอม, 2546)

2.2.3 การวิเคราะห์แอนโทไซยานิน

การวิเคราะห์แอนโทไซยานินมักจะมีความยุ่งยาก เนื่องจากแอนโทไซยานินสามารถเปลี่ยนรูปโครงสร้าง (structure transformation) และเกิดปฏิกิริยาที่ซับซ้อน นอกจากนี้ยังเป็นการยากที่จะแยกแอนโทไซยานินออกจากสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ตัวอื่นๆ เพราะมีโครงสร้างและลักษณะการเกิดปฏิกิริยาที่คล้ายคลึงกัน (เสกสรร วงศ์ศิริ, 2546)

การสังเคราะห์แอนโทไซยานินในระยะเวลาที่ผลไม้เริ่มแก่ถึงสุกนั้นจะสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อของผลไม้ ทั้งนี้เพราะน้ำตาลเป็นส่วนหนึ่งของโครงสร้างแอนโทไซยานิน นอกจากนี้ การสังเคราะห์แอนโทไซยานินยังขึ้นอยู่กับความยาวคลื่นแสง และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีอยู่ด้วย (สายชล เกตุษา, 2528)

การวิเคราะห์แอนโทไซยานินแบ่งออกเป็น 2 แบบ ได้แก่

2.2.3.1 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative analysis)

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ เป็นการวิเคราะห์หาชนิดของแอนโทไซยานินชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของแอนโทไซยานิน และตำแหน่งที่เกาะกับแอนโทไซยานิน รวมถึงสารประกอบเอซิล (acyl compounds) ในโมเลกุลของแอนโทไซยานิน

2.2.3.2 การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative analysis)

การวิเคราะห์เชิงปริมาณ เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด โดยแบ่งตามลักษณะตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

(1) ตัวอย่างที่มีสารประกอบ ซึ่งดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกับแอนโทไซยานินปนอยู่เล็กน้อยหรือไม่มีเลย

โดยปกติในผักและผลไม้มักจะมีสารประกอบที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงคลื่นเดียวกับแอนโทไซยานิน (500 – 535 นาโนเมตร) อยู่เล็กน้อย ดังนั้นปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดจึงสามารถหาได้โดย อาศัยหลักการดูดกลืนแสงดังกล่าว

การสกัดแอนโทไซยานินจากผลแครนเบอร์รี่โดยใช้เอทานอลกับกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1.5 นอร์มอล ในอัตราส่วน 85:15 โดยปริมาตรเป็นตัวทำละลายในการสกัด ขั้นตอนในการสกัด คือ เติมตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างหนัก 100 กรัม (SW) ปั่นใน Waring blender ด้วยความเร็วสูงสุด เทตัวอย่างลงในบีกเกอร์ขนาด 400 มิลลิลิตร ล้างภาชนะที่ใช้ปั่นด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด 50 มิลลิลิตร ปิดบีกเกอร์ด้วยแผ่นพาราฟิล์ม (parafilm) เก็บไว้ค้างคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มารองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ล้างกากด้วยตัวทำละลายจนกระทั่งได้สารสกัดประมาณ 450 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร (TEV) ด้วยตัวทำละลาย นำสารสกัดที่ได้จำนวนเล็กน้อย (SV) มาเจือจางด้วยตัวทำละลายที่ใช้สกัด (DV) เพื่อให้ค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้อยู่ในช่วง 0.3 – 0.8 เก็บไว้ในที่มืด 2 ชั่วโมงเพื่อให้เกิดการสมดุลของรูปต่างๆ ของแอนโทไซยานิน จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 535 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer แล้วคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดจากสูตรต่อไปนี้

$$T.O.D. = O.D. \times DV \times VF \quad (1)$$

โดยที่

O.D. คือ ค่าดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากตัวอย่างที่เจือจางแล้วโดยใช้เซลล์ขนาด 1 เซนติเมตร

DV คือ ค่าการเจือจางตัวอย่างก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อให้ค่าที่วัดได้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม (Diluted Volume)

VF คือ ค่าที่ใช้คูณเข้าไปเพื่อให้ค่าดูดกลืนแสงที่คำนวณได้มีหน่วยเป็น OD/100 มิลลิลิตรของสารสกัด (Volume factor)

$$T.O.D. \text{ ต่อ } 100 \text{ กรัม} = T.O.D. \text{ ของสารสกัด } 100 \text{ มิลลิลิตร} \times TEV/CrW \quad (2)$$

โดยที่

TEV คือ ปริมาตรของสารสกัดที่ได้ทั้งหมดเป็นมิลลิลิตร (Total Extract Volume)

CrW คือ น้ำหนักของแครนเบอร์รี่เป็นกรัม

$$TAcy \text{ มิลลิกรัม ต่อ } 100 \text{ กรัม} = \frac{T.O.D. \text{ ต่อ } 100 \text{ กรัม}}{E^{1\%}_{1cm} / 10} \quad (3)$$

โดยที่

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ คือ ค่า Extinction coefficient ซึ่งได้จากค่าเฉลี่ยโดยน้ำหนักโมเลกุลของแอนโทไซยานิน

จากสูตรที่ (1), (2) และ (3) สามารถนำมาเขียนเป็นสูตรใหม่ได้ดังสูตรที่ (4)

$$TAcy = O.D. \times DV \times \frac{100}{SV} \times \frac{TEV}{SW} \times \frac{1}{E_{1\text{cm}}^{1\%} / 10} \quad (4)$$

โดยที่

$TAcy$ คือ ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมแอนโทไซยานินต่อวัตถุดิบ 100 กรัม)

SV คือ ปริมาตรของสารละลายสกัดที่เตรียมสำหรับเจือจาง (มิลลิลิตร)

SW คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้ในการสกัด (กรัม)

(2) ตัวอย่างที่มีสารประกอบซึ่งดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกับแอนโทไซยานินปนอยู่

ในผลิตภัณฑ์ที่มีรงควัตถุแอนโทไซยานินเป็นสารให้สี หลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน การเก็บรักษา หรือกระบวนการผลิตอย่างใดอย่างหนึ่ง มักจะก่อให้เกิดสารที่ได้จากการสลายตัวของผลิตภัณฑ์ (degradation products) เช่น ผลิตภัณฑ์จากการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลกับกรดอะมิโน (Maillard reactions) ซึ่งสารเหล่านี้มักจะรบกวน (interfere) การวิเคราะห์แอนโทไซยานิน เนื่องจากสารดังกล่าวมีค่าการดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกับแอนโทไซยานิน ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินที่วิเคราะห์ได้ผิดพลาด การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในตัวอย่างที่มีสารประกอบเหล่านี้อยู่สามารถทำได้ 2 วิธี คือ

ก. แยกสารรบกวน (interfering materials) ที่ดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกับแอนโทไซยานินออกไปก่อน โดยวิธีการแยกวิธีใดวิธีหนึ่ง เช่น ion exchange, paper chromatography, thin - layer chromatography, gas chromatography และ high performance liquid chromatography เป็นต้น

ข. อาศัยหลักการที่แอนโทไซยานินจะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง เมื่อความเป็นกรดต่างเกิดการเปลี่ยนแปลง ทำให้ความสามารถในการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินเกิดการเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย จึงสามารถคำนวณปริมาณแอนโทไซยานินจากความแตกต่างของค่าดูดกลืนแสงในระบบที่มีค่าความเป็นกรดต่างต่างกันได้ ทั้งนี้เพราะค่าการดูดกลืนแสงจากสารบกวนซึ่งดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกับแอนโทไซยานินจะถูกหักล้างออกไป วิธีการนี้เรียกว่า "pH differential method"

การเลือกระดับค่าความเป็นกรดต่างในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH differential method ต้องพิจารณาถึง

ก. ค่าความเป็นกรดต่างทั้ง 2 ค่าที่เลือกนั้นควรให้ค่าการดูดกลืนแสงที่มีผลต่างห่างกันมากที่สุด หลีกเลี่ยงช่วงค่าความเป็นกรดต่างในบริเวณเส้นโค้งที่มีความชันสูง ซึ่งจะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนแปลงได้มากเมื่อค่าความเป็นกรดต่าง เปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย

ข. การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดต่างรอบๆ ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ไม่ควรทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเปลี่ยนแปลงมากนัก

ค. แอนโทไซยานินในตัวอย่างควรอยู่ในรูปที่เสถียรที่ระดับความเป็นกรดต่างที่เลือกใช้

เสกสรรค์ วงศ์ศิริ (2546) หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในน้ำแครนเบอร์รี่ โดยใช้หลักการของวิธี pH differential โดยวัดค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างในสารละลายบัฟเฟอร์ KCl - HCl ที่ pH 1.0 และ $\text{CH}_3\text{COONa-HCl}$ ที่ pH 4.5 ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยที่ pH 1.0 แอนโทไซยานินจะอยู่ในรูป flavylum cation ซึ่งให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด และที่ pH 4.5 แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป carbinol base ซึ่งจะให้ค่าการดูดกลืนแสงต่ำที่สุด ที่ความยาวคลื่นเดียวกัน โดยปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสามารถคำนวณได้จากสูตรที่ (5)

$$T_{\text{Acy}} = \frac{\Delta O.D. \times 10}{\text{Avg.} E_{\text{cm}}^{1\%}} \quad (5)$$

โดยที่

T_{Acy} = ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมสารละลายสกัด)

$\text{Avg.} E_{\text{cm}}^{1\%}$ คือ ค่า Extinction coefficient ซึ่งได้จากค่าเฉลี่ยโดยน้ำหนักโมเลกุลของแอนโทไซยานินทุกตัวที่มีอยู่ในแครนเบอร์รี่

$$\Delta \text{O.D.} = T_{\text{O.D.}}(\text{pH } 1.0) - T_{\text{O.D.}}(\text{pH } 4.5)$$

$$T_{\text{O.D.}} = \text{O.D.} \times \text{DV} \times \text{VF}$$

DV (Dilution Volume) คือ ปริมาตรสารละลายสกัดที่เจือจาง
ไว้สำหรับวัดค่าการดูดกลืนแสง
(มิลลิเมตร)

VF (Volume Factor) คือ ปริมาตรสารละลายสกัดเริ่มต้น /
ปริมาตรสารละลายสกัดตัวอย่าง

ข้อดีอีกอย่างหนึ่งของการวัดปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH differential method คือ สามารถคำนวณค่า degree of degradation ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงสัดส่วนของรงควัตถุแอนโทไซยานินที่เสื่อมสลาย (degrade) ไปได้ โดยแสดงในเทอมของค่าดัชนีการสลายตัว (Degradation Index : DI)

ค่า degree of degradation สามารถคำนวณได้จากสูตรที่ (6)

$$\text{Degradation Index (DI)} = \frac{\text{TAcy by the single pH method}}{\text{TAcy by the pH differential method}} \quad (6)$$

ในงานวิจัยนี้ใช้วิธี pH differential method ตามวิธีการของ เสกสรร วงศ์ศิริ (2546) ในการหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด โดยเลือกวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ระดับความเป็นกรดต่าง 1.0 และ 5.0 ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

(3) การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินแต่ละชนิด

ในการวิเคราะห์รงควัตถุแอนโทไซยานินแต่ละชนิด จำเป็นที่จะต้องแยกรงควัตถุแอนโทไซยานินออกจากรงควัตถุชนิดอื่นๆ ก่อน เพื่อให้ได้สารละลายแอนโทไซยานิน ที่ปราศจากน้ำตาล และผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการสลายตัวของรงควัตถุดังกล่าวโดยการใช้ lead acetate, polyamide, poly vinyl pyrrolidone หรือ ion-exchange resins จากนั้นจึงนำตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์เพื่อหาชนิดของแอนโทไซยานินต่อไป ซึ่งวิธีการต่างๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้แก่ high-performance liquid chromatography (HPLC), thin-layer chromatography (TLC) เป็นต้น

2.3 นามแดง (Nam Daeng)

ชื่ออื่น : มะนาวไม่รู้โห่ (ภาคกลาง) นามขี้แฮด (ภาคเหนือ) มะนาวโห่ (ภาคใต้)



(ก)



(ข)

ภาพที่ 2.2 (ก) ลักษณะของลูกนามแดง (ข) ดอกของต้นนามแดง

ที่มา : เอี่ยมพร วิสมหมาย (ม.ป.ป.)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น : เป็นไม้พุ่ม สูงประมาณ 2-3 เมตร เปลือกลำต้นสีน้ำตาลเข้ม แตกเป็นริ้วตามกิ่งก้านและลำต้นเป็นหนามแหลม มียางสีขาว

ใบ : เป็นใบเดี่ยว ออกตรงข้ามกัน ใบรูปรีเกือบกลม ปลายใบเว้าเล็กน้อย โคนใบมนเว้าเข้าหาก้านใบ หลังใบและท้องใบเรียบ ใบอ่อนมีสีแดง ก้านใบสั้น

ดอก : ออกเป็นช่อ ออกตามซอกใบใกล้ปลายยอด ดอกย่อยสีขาว กลีบมี 5 กลีบ ปลายกลีบดอกแหลม โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ก้านชูดอกสีเข้ม

ผล : รูปทรงกลมรี ผิวเรียบ ผลอ่อนสีขาว ผลแก่เป็นสีชมพูจนเป็นสีแดงเข้มจนเกือบดำ เมล็ดแบนมี 6 เมล็ด

ประโยชน์ : ใบ ใช้ใบสดต้มน้ำดื่ม แก้ท้องร่วง แก้ปวดหู แก้เจ็บคอ แก้เจ็บปากแก้ไข้เนื้อไม้ เป็นยารักษาธาตุ บำรุงไขมันในร่างกายให้แข็งแรงแก้อ่อนเพลีย

ผล ทั้งผลสุกและดิบกินแก้เลือดออกตามไรฟัน เป็นยาฟาดสมาน

รากสด ต้มเอาน้ำดื่ม เป็นยาขับพยาธิ บำรุงธาตุ เจริญอาหาร บำรุง

กระเพาะอาหาร ดำให้ละเอียดผสมกับสุรา นำมาทาแล้วพอกแก้คัน ใช้พอกบาดแผล (นิจศิริ เรื่องรังษี, 2547)

2.4 น้ำผลไม้

2.4.1 ความหมาย

ตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 62 (2524) ได้ให้คำจำกัดความของน้ำผักและน้ำผลไม้ว่าหมายถึงเครื่องดื่มที่ทำจากผลไม้หรือผักไม่ว่าจะมีคาร์บอนไดออกไซด์หรือออกซิเจนอยู่ด้วยหรือไม่ก็ตามอาจมีเอทิลแอลกอฮอล์อันเกิดจากธรรมชาติของส่วนประกอบหรือที่เติมลงไป เพื่อช่วยให้กรรมวิธีการผลิตรวมกันได้ไม่เกินร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก ซึ่งน้ำผักหรือน้ำผลไม้เหล่านี้อาจอยู่ในรูปผลิตภัณฑ์พร้อมดื่มเข้มข้นหรือชนิดแห้งก็ได้

น้ำผลไม้ หมายถึง ของเหลวที่สกัดจากน้ำผลไม้ในส่วนที่บริโภคได้โดยวิธีบีบคั้นหรือกรรมวิธีเชิงกลอื่นๆ โดยทั่วไปน้ำผลไม้ที่ได้จะขึ้นอยู่กับลักษณะของเนื้อเยื่อผลไม้ นอกจากนี้ อาจมีส่วนที่เป็นน้ำมันหรือไขมัน เม็ดสี เนื้อ หรือเปลือกผลไม้ผสมอยู่ น้ำผลไม้บางชนิดต้องบริโภคเมื่อผ่านกระบวนการทำให้สุแล้ว

2.4.2 ประเภทของน้ำผลไม้

ในทางอุตสาหกรรมทางอาหารนั้น จะแบ่งชนิดของผลิตภัณฑ์น้ำผักน้ำผลไม้เป็นอีกหลายแบบทั้งนี้ขึ้นกับปริมาณของแข็งทั้งหมดบ้าง ปริมาณกรดบ้าง หรือ ความข้นใสของผลิตภัณฑ์บ้าง ชนิดของน้ำผักและผลไม้ที่สำคัญได้แก่ น้ำผลไม้แท้ น้ำผลไม้พร้อมดื่ม น้ำผลไม้เข้มข้น และน้ำผลไม้ชนิดผง

น้ำผลไม้ที่มีวางขายอยู่ตามท้องตลาดมีหลายประเภทดังนี้

1. น้ำผลไม้แท้
2. น้ำผลไม้เข้มข้น
3. น้ำผลไม้ดัดแปลงเนคตาร์ (Nectar)
4. น้ำผลไม้ดัดแปลงสควอช (Squash)
5. น้ำผลไม้ในน้ำเชื่อม หรือไซรัปผลไม้
6. น้ำผลไม้คอร์เดียล หรือน้ำผลไม้ในน้ำเชื่อมแบบใส
7. น้ำผลไม้เทียม
8. น้ำผลไม้ชนิดเข้มข้น หรือน้ำหวานกลั่นผลไม้เข้มข้น
9. เครื่องดื่มน้ำผลไม้ผง
10. เครื่องดื่มดัดแปลงผง
11. เครื่องดื่มผงอัดแก๊ส

2.4.3 วิธีการสกัดน้ำผลไม้แท้

สามารถทำได้ 2 วิธี คือ

2.4.3.1 การบีบอัด (Pressing) เป็นการสกัดน้ำผลไม้โดยใช้แรงอัด เพื่อบีบส่วนที่เป็นของเหลวออกจากผักผลไม้ส่วนมากจะใช้ในกรณีที่ต้องการผลิตน้ำผลไม้ชนิดใส วิธีการสกัดเช่นนี้จะมีผลที่ตามมา คือ จะมีอัตราการละลายของออกซิเจนในน้ำผลไม้ที่สกัดได้ต่ำกว่าน้ำผลไม้ที่ได้จากการตีปั่น

2.4.3.2 การตีปั่น (Pulping) เป็นวิธีการสกัดโดยการตีปั่นให้เนื้อของผลไม้มีขนาดเล็กลง มีสภาพเป็นของเหลวกึ่งของแข็ง นิยมใช้กับผลไม้ประเภท มะเขือเทศ เสาวรส มะละกอ ฝรั่ง เป็นต้น

2.4.3.3 ข้อควรระวังในระหว่างการสกัดน้ำผลไม้

ในระหว่างการสกัดน้ำผลไม้จะต้องมีการควบคุมปัจจัยต่างๆ อย่างเหมาะสม มิฉะนั้นอาจทำให้ความชุ่มชื้น เนื้อสัมผัส และรสชาติของผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ที่ได้เปลี่ยนแปลงไปจากที่ต้องการมาก ความชุ่มชื้น และเนื้อสัมผัสของน้ำผลไม้ อาจเนื่องมาจากการที่ในผลไม้มีเอนไซม์ในกลุ่มเพกทิเนส ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวได้ทำปฏิกิริยาขึ้นเมื่อทำการสกัดน้ำผลไม้ โดยที่จะทำให้สารประกอบเพกทินที่มีในผลไม้มีขนาดโมเลกุลที่เล็กลง ทำให้ละลายน้ำได้ง่ายยิ่งขึ้น และสามารถรวมตัวเป็นเจลได้เมื่อมีน้ำตาลและกรดอยู่ด้วย ดังนั้นในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้มีความชุ่มชื้นและไม่ต้องการให้เปลี่ยนสภาพเป็นเจล หรือเป็นเมือกนั้น จำเป็นต้องระวังปฏิกิริยา ของเอนไซม์เพกทิเนสอย่างรวดเร็ว วิธีการที่นิยมใช้ในการหยุดการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว คือ การใช้ความร้อน ซึ่งทำได้โดยการเพิ่มอุณหภูมิของผัก (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาลิก, 2529)

2.4.4 ส่วนประกอบของน้ำผลไม้

2.4.4.1 กรดซิตริก

กรดที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ นอกจากช่วยให้ผลิตภัณฑ์รสเปรี้ยวพอเหมาะแล้ว ยังช่วยลดค่า pH ของผลิตภัณฑ์ ทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ลดลง และถูกทำลายด้วยความร้อนได้ง่ายขึ้น และถ้าใช้น้ำตาลในผลิตภัณฑ์สูง การเติมกรด จะช่วยให้น้ำตาลทรายบางส่วนแตกตัวเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว จึงลดการตกผลึกของน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ได้ กรดที่ใช้ในการปรุงแต่งผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้จะนิยมใช้กรดอินทรีย์ เช่น กรดมาลิก กรดซิตริก กรดทาร์ทาริก ซึ่งนิยมใช้มากที่สุดคือ กรดซิตริก ดังนั้นการคำนวณปริมาณกรด หรือค่าความเป็นกรดของผลิตภัณฑ์จึงนิยมคำนวณในรูปของกรดซิตริก

2.4.4.2 น้ำตาล

น้ำตาลเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีรสหวานละลายน้ำได้ดี น้ำตาลที่พบในน้ำผลไม้ส่วนมากเป็นกลูโคส ฟรักโทส และซูโครสเป็นต้น น้ำตาลนอกจากจะเป็นแหล่งพลังงานของยีสต์และจะถูกเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์แล้วยังทำให้ไวน์มีรสหวาน ซูโครสหรือน้ำตาลทรายเป็นแหล่งของน้ำตาลที่ใช้เดิมในน้ำผลไม้ที่มีน้ำตาลอยู่น้อย นอกจากนี้อาจจะใช้น้ำตาลจากแหล่งอื่น เช่น กลูโคสไซรัปและน้ำผึ้ง เป็นต้น น้ำผลไม้ที่มีรสหวานจะมีน้ำตาลอยู่มากจึงเหมาะต่อการผลิตไวน์ เช่น องุ่นมีน้ำตาล 15.4% และน้ำผึ้งมีน้ำตาล 76.4% เป็นต้น ความเข้มข้นของน้ำตาลใช้หน่วย °Brix และวัดโดยใช้เครื่อง hand refractometer น้ำตาลทรายซูโครสนิยมนำมาผลิตน้ำผลไม้เพราะหาง่ายและราคาถูก ส่วนในระดับอุตสาหกรรมจะใช้ ฟรักโทส คอรันไซรัป หรือ กลูโคสไซรัปเพราะสะดวก

ในการแปรรูปผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ขึ้นทางกระทรวงสาธารณสุขไม่อนุญาตให้ใช้สารให้ความหวานอื่นใดนอกจากน้ำตาล ยกเว้น เครื่องดื่มที่มีวัตถุประสงค์พิเศษซึ่งต้องขออนุญาตเป็นกรณีไป น้ำตาลที่ใช้อาจได้แก่ น้ำตาลทราย แบะแซ กลูโคส ฟรักโทส ก็ได้แต่โดยทั่วไปแล้ว นิยมใช้น้ำตาลทรายเป็นส่วนผสม น้ำตาลทรายที่ใช้ควรเป็นน้ำตาลทรายขาวที่ผ่านการฟอกสีมาแล้ว เพื่อป้องกันการเกิดสีคล้ำของผลิตภัณฑ์ ตลอดจนการมีกลิ่นแปลกปลอมอันเนื่องมาจากกากน้ำตาล ที่มีอยู่ในน้ำตาลที่ไม่ได้ฟอกสี

2.4.4.3 น้ำ

ความจำเป็นต่อการเจริญของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดแม้แต่จุลินทรีย์ก็ต้องการน้ำ นอกจากนี้น้ำยังมีผลต่อคุณภาพของน้ำผลไม้อีกด้วย ดังนั้นน้ำที่ใช้เป็นส่วนผสมกับน้ำผลไม้ในการผลิตน้ำผลไม้จึงต้องเป็นน้ำสะอาดไม่มีคลอรีน มีค่า pH 7.0-7.2 ค่าของแข็งทั้งหมดต้องต่ำปราศจากจุลินทรีย์และไม่มีไอออนของโลหะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำที่ใช้ผลิตน้ำผลไม้ต้องไม่มีไอออนของเหล็กหรือทองแดงปนอยู่ เพราะจะทำให้สีแดงของน้ำผลไม้เปลี่ยนไปได้

2.5 ไวน์

ไวน์เป็นเครื่องดื่มที่มีแหล่งแอลกอฮอล์ที่เกิดจากการหมักผลไม้ น้ำผลไม้ หรือผลผลิตการเกษตรบางชนิด เช่น ข้าว น้ำผึ้ง แป้ง เป็นต้น ด้วยเชื้อยีสต์ที่คัดเลือกแล้วมีการควบคุมการหมักและการผลิตอย่างเหมาะสม ทั้งนี้อาจเติมแอลกอฮอล์หรือสุราชนิดอื่นเพื่อให้ที่แรงแอลกอฮอล์มากขึ้นและอาจปรุงแต่งสี กลิ่น รส เพิ่มเติมด้วยก็ได้ ไวน์ที่ผลิตจากผลไม้ที่ไม่ใช่อองุ่นจะเรียกว่าไวน์ผลไม้ หรือเรียกชื่อผลไม้ นั้น ๆ ตามด้วย เช่น ไวน์สับปะรด ไวน์สตอเบอรี่ ไวน์หม่อน เป็นต้น การผลิตไวน์เป็นศิลปะทางวิทยาศาสตร์ซึ่งรวมเอาหลักการทางเคมี และชีวเคมีเพื่อศึกษาองค์ประกอบทางอินทรีย์ รวมทั้งอนินทรีย์โดยเฉพาะเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ กระบวนการเปลี่ยนแปลงสารประกอบอินทรีย์ไปเป็นสารให้กลิ่นและรสชาติ ไวน์แตกต่างจากเหล้าหรือเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดอื่น ๆ ตรงไวน์ทำจากน้ำผลไม้ มีปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำ รสเปรี้ยว รสหวาน หรือไม่หวานก็ได้ มีกลิ่นหอมจากผลไม้ชนิดนั้น ๆ กลิ่นหอมที่เกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีและมีคุณประโยชน์ของน้ำผลไม้เช่น วิตามิน เกลือแร่ และแร่ธาตุต่าง ๆ (พงศ์กมล พงศ์สยาม, 2547)

2.5.1 ประเภทของไวน์ การจำแนกชนิดของไวน์สามารถจำแนกได้หลายแบบคือ

2.5.1.1 จำแนกตามสีของไวน์ สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

2.5.1.1.1 ไวน์แดง (red wine) ทำจากองุ่นแดงหรือผลไม้สีแดง ไวน์แดงจะมีสีตั้งแต่สีแดงอ่อน ๆ จนถึงสีแดงเข้ม (สีทับทิม) หรือสีม่วงเข้มซึ่งขึ้นกับประเภทขององุ่นที่นำมาทำไวน์ ไวน์แดงจะมีรสชาติ ความฝาด กลิ่น และความเข้มข้นมากกว่าไวน์ชนิดอื่น ๆ แต่หวานน้อยกว่า

2.5.1.1.2 ไวน์ขาว (white wine) ทำจากองุ่นเขียวหรือผลไม้สีอื่น สีของไวน์จะมีระดับต่าง ๆ กัน ตั้งแต่สีเหลืองซีดจนถึงสีเหลืองทองใส ไวน์ขาวมีรสชาติอ่อน

2.5.1.1.3 ไวน์โรเซ่ (rose หรือ pink wine) มักได้จากการผสมระหว่างไวน์ขาวกับไวน์แดง หรืออาจได้จากการหมักองุ่นแดงหรือผลไม้สีแดงที่ควบคุมระยะเวลาในการสกัดสีออกจากผิวของเปลือกองุ่นให้ต่ำกว่าปกติ ไวน์ที่ได้จะมีสีชมพูระดับที่แตกต่างกันไปตั้งแต่สีชมพูอ่อน ๆ จนถึงสีเกือบแดง มีลักษณะและรสชาติคล้ายไวน์ขาว

2.5.1.2 จำแนกตามปริมาณแอลกอฮอล์ที่มีในไวน์ คือ

2.5.1.2.1 เทเบิลไวน์ คือไวน์ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ระหว่าง 9-14%v/v และมีปริมาณก๊าซ CO₂ เพียงเล็กน้อย ซึ่งได้จากการหมักตามธรรมชาติ โดยไม่มีการเติมสิ่งหนึ่งสิ่งใดลงไป นิยมใช้ดื่มก่อนอาหารเพื่อเรียน้ำย่อยหรือดื่มในระหว่างการรับประทานอาหาร

2.5.1.2.2 ฟอर्टิฟายด์ไวน์ (fortified wine) คือไวน์ที่มีการเติมแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ที่ได้จากการกลั่นเหล้าองุ่น หรือบรันดี (brandy) หรือเหล้าชนิดอื่น ๆ (spirits) ลงไป เพื่อเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ให้สูงขึ้นประมาณ 12-24%v/v จึงสามารถเก็บได้นานกว่าเทเบิลไวน์โดยทั่วไปจะเป็นไวน์ที่มีความหวาน นิยมใช้รับประทานหลังอาหารหรือเรียกว่าเป็นไวน์ย่อยอาหาร เช่น port wine และ เชอร์รี่ (sherry)

2.5.1.3 จำแนกตามปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในไวน์ ซึ่งขึ้นกับมาตรฐานของแต่ละประเทศ เช่นที่ประเทศออสเตรเลีย Wine Committee of The Royal Agricultural and Horticulture Society of South Australia กำหนดว่า

2.5.1.3.1 ไวน์ไม่หวาน (dry wine) คือไวน์ที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) ไม่เกิน 7.5 กรัมต่อลิตร

2.5.1.3.2 ไวน์หวาน (sweet wine) คือไวน์ที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตั้งแต่ 10-200 กรัมต่อลิตรในบางแห่งจะแบ่งไวน์ตามความหวานออกเป็นหลายระดับ เช่น ไวน์ไม่หวาน ไวน์หวานเล็กน้อย (semi-dry wine) ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ระหว่าง 7.5-10 กรัมต่อลิตร ไวน์หวาน และไวน์หวานมาก

2.5.1.4 จำแนกตามปริมาณก๊าซ CO₂ คือ

2.5.1.4.1 ไวน์ไม่มีฟอง (Still wine) คือ ไวน์ที่มีก๊าซ CO₂ เพียงเล็กน้อยซึ่งเกิดจากการหมักตามธรรมชาติ โดยทั่วไปหมายถึง table wine มีปริมาณแอลกอฮอล์ระหว่าง 9-14%v/v

2.5.1.4.2 สปาร์คลิงไวน์ (sparkling wine) คือ ไวน์ที่มีการเติมก๊าซ CO_2 หลังการหมักหรือไวน์ที่มีการหมักซ้ำ (refermentation) ในขวดอีกครั้งหนึ่ง เช่นแชมเปญ มีความซ่าเนื่องจากมีก๊าซ CO_2 บรรจุในขวด ปกติมีแอลกอฮอล์ 10-13%v/v

2.5.1.5 ไวน์ที่มีการเติมกลิ่นสมุนไพร

2.5.1.5.1 ไวน์ที่มีการเติมกลิ่นสมุนไพร (herbs) เปลือกไม้ รากไม้ พืชต่าง ๆ เครื่องเทศ (exotic spices) หรือสารสกัดให้กลิ่น เพื่อแต่งเติมปรับปรุงสีกลิ่นและกลิ่นหอม ปรับปรุงรสชาติให้กลมกล่อมขึ้น เช่น เวอร์มูท (Vermouth) และมาตินี (martini)

2.5.1.5.2 ไวน์ที่ไม่มีการเติมกลิ่นสมุนไพร เครื่องเทศหรือสารสกัดให้กลิ่น

2.5.1.6 จำแนกตามโอกาสที่ดื่ม

2.5.1.6.1 ไวน์ดื่มก่อนอาหาร (aperitif wine) เป็นไวน์หวาน มีแอลกอฮอล์สูง ใช้ดื่มก่อนรับประทานอาหารเพื่อเรี่ยน้ำย่อย ปริมาณแอลกอฮอล์อาจสูงถึง 20%v/v ได้มาจากการเติมแอลกอฮอล์ ซึ่งอาจเติมในรูปของวิสกีหรือบรันดี หรือวอดก้า (vodka) หรือเอทิลแอลกอฮอล์ชนิดทานได้ ตัวอย่างของไวน์ชนิดนี้ได้แก่ ไวน์เชอรี่

2.5.1.6.2 ไวน์ดื่มระหว่างอาหาร หรือดื่มพร้อมอาหาร ไวน์ชนิดนี้ ส่วนมากไม่หวาน มีแอลกอฮอล์ประมาณ 9-14%v/v

2.5.1.6.3 ไวน์ดื่มหลังอาหาร ได้แก่ พอร์ท (port) ครีมเชอรี่ (cream sherry) โทเก (tokay) และมาลากา (malaga) (อิริต ชินชูจิตร, 2545)

2.5.2 ประโยชน์และโทษของไวน์

ประโยชน์

(1) ทำให้ย่อยอาหาร ดื่มน้ำก่อนอาหารเป็นการเร็กน้ำย่อย

(2) ช่วยเสริมกลืนรสอาหาร ใช้ดื่มควบคู่กับอาหาร หรือเติมลงในอาหารหรือหมักกับ

วัตถุดิบ

(3) ประโยชน์ทางการแพทย์ ต้องอยู่ในความดูแลของแพทย์ ปกติแพทย์จะให้คนใช้ดื่มไวน์วันละประมาณ 2 – 3 แก้วมาตรฐานเพื่อการรักษาหรือบรรเทาอาการของโรคบางอย่าง เช่น ดื่มเพื่อระงับอาการเจ็บปวด ช่วยขับปัสสาวะ ช่วยระงับความตื่นเต้น ช่วยรักษาโรคความดันโลหิตต่ำ ช่วยทำให้หลอดเลือดหัวใจไม่ตีบตันจึงไม่เป็นโรคหัวใจวายเป็นต้น

โทษ

เหมือนเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ทั่วไป ดื่มมากขาดสติยับยั้ง ก้าวร้าว เกิดอุบัติเหตุง่าย ดื่มมากเป็นประจำทุกวันมีโอกาสเป็นโรคตับแข็ง โรคพิษสุราเรื้อรัง (alcoholism) เป็นต้น (ประติษฐ์ คุรุวัฒนา, 2546)

2.5.5 องค์ประกอบทางเคมีของไวน์

สารที่เป็นองค์ประกอบของไวน์มีหลายชนิดในปริมาณมากน้อยต่างกัน ขึ้นกับชนิดของไวน์ ซึ่งสารองค์ประกอบเหล่านี้ให้ทั้งผลดีและผลเสียต่อคุณภาพของไวน์ สารที่เป็นองค์ประกอบหลักในไวน์ได้แก่ แอลกอฮอล์ และยังมีสารในกลุ่มสารที่ระเหยได้ ที่เกิดขึ้นระหว่างขั้นตอนการหมักไวน์

2.5.5.1 เอธานอล

เอธานอล หรือเอธิลแอลกอฮอล์ มีลักษณะใส ไม่มีสี ไวไฟ มีความถ่วงจำเพาะเท่ากับ 0.7939 ที่ความเข้มข้นเอธานอลร้อยละ 100 โดยปริมาตร เป็นสารที่ผลิตโดยยีสต์ ในสภาวะไร้ออกซิเจนโดยเปลี่ยนน้ำตาลส่วนใหญ่ในน้ำหมักไปเป็นเอธานอลและสารพลอยได้อื่น ๆ ที่มีความสำคัญต่อกลิ่นและรสชาติของไวน์ ขณะที่น้ำตาลบางส่วนยีสต์นำไปใช้ในการเจริญและกิจกรรมต่าง ๆ ของเซลล์

2.5.5.2 แอลกอฮอล์อื่น ๆ

2.5.5.2.1 เมธานอล

เมธานอล หรือเมธิลแอลกอฮอล์ เป็นสารที่เกิดขึ้นจากการไฮโดรไลซิสของเมธิลเพคตินที่พบเป็นองค์ประกอบในเนื้อและเปลือกผลไม้ โดยการทำงานของเอนไซม์ pectin methylesterase (PME) ความเข้มข้นของเมธานอลขึ้นอยู่กับปริมาณของเพคตินในผลไม้แต่ละชนิดและที่เติมลงไปไวน์ ปริมาณเมธิลแอลกอฮอล์ยังขึ้นอยู่กับ degree of methylation ของเพคตินซึ่งถ้ามีต่ำจะมีผลทำให้ปริมาณเมธิลแอลกอฮอล์ในไวน์ต่ำด้วย ปริมาณเมธิลแอลกอฮอล์ในไวน์ขาวพบประมาณ 40-120 มิลลิกรัม/ลิตร ในไวน์แดงจะมีมากกว่าซึ่งพบประมาณระหว่าง 120-250 มิลลิกรัม/ลิตร ถือเป็นสารพิษที่ต้องควบคุมในไวน์ เพราะถ้ามีในปริมาณที่สูงจะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค สะสมในร่างกายได้หากได้รับเป็นประจำและติดต่อกันเป็นเวลานาน พบว่าปริมาณเมธิลแอลกอฮอล์ ตั้งแต่ 10 มิลลิกรัมขึ้นไป จะมีผลต่อร่างกายทำให้เพื่อย ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน อาจมองไม่เห็นชั่วคราวหรือถาวร หลังจากได้รับ 2-6 วัน

2.5.5.2.2 แอลกอฮอล์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ (Higher alcohol)

แอลกอฮอล์อื่น ๆ เช่น fusel oil เป็นแอลกอฮอล์ที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบมากกว่า 2 อะตอม เรียกว่า Higher alcohol ในไวน์ประกอบด้วยไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (3-methyl - 1 - butanol), แอคทิฟเอมิลแอลกอฮอล์ (2 - methyl - 1 - butanol), ไอโซบิวทิลแอลกอฮอล์ (2 - methyl - 1 - propanol), 2 - propanol และ n - butanol เป็นต้น แอลกอฮอล์เหล่านี้มีผลต่อกลิ่นและรสของไวน์ตามปกติแอลกอฮอล์ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่จะมีปริมาณของไอโซเอมิลแอลกอฮอล์มากกว่าร้อยละ 50 ของแอลกอฮอล์ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ทั้งหมด องค์ประกอบใน table wine โดยทั่วไปพบปริมาณแอลกอฮอล์ขนาดโมเลกุลใหญ่ระหว่าง 140 ถึง 240 มิลลิกรัม/ลิตร นอกจากนี้พบในไวน์แดงมากกว่าไวน์ขาวอีกด้วย อย่างไรก็ตามปัจจัยที่มีผลต่อการผลิต ได้แก่ สายพันธุ์ยีสต์ อุณหภูมิการหมัก ระดับออกซิเจนในน้ำหมัก ค่า pH และสารอาหารในการหมัก

2.5.5.3 สารประกอบอื่น ๆ

2.5.5.3.1 สารฟีนอล, พอลิฟีนอล

โดยทั่วไปฟีนอลอยู่ในรูปของ phenic acid, phenylic acid และ oxibenzene อย่างไรก็ตาม phenol และ phenolic บางชนิด เช่น แทนนิน สามารถเรียกว่า พอลิฟีนอล พบว่า 65% ของพอลิฟีนอล ในองุ่นจะพบในส่วนของเนื้อเยื่อ 25% ผิวองุ่น 12% และน้ำองุ่น 1% สารประกอบ phenolic ให้รสฝาดและขมแก่ไวน์ ปริมาณที่พบขึ้นกับชนิดของผลไม้ การเตรียมวัตถุดิบ การหมักและการเก็บบ่มไวน์ สารประกอบพอลิฟีนอล แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ

(1) Flavonoids เป็น polymer ขนาดใหญ่ คือแทนนินนอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเป็นสารกลุ่ม resveratrol มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ cholesterol ในร่างกายมนุษย์ประกอบด้วย flavan - 3 - ols เช่น catechin, epicatechin, procyanindin, flavonol เช่น myricetin, quercetin และ anthocyanin

(2) Non - flavonoids เป็นสารที่มีขนาดเล็ก ๆ ที่ได้จากไวน์ที่ผ่านการเก็บบ่มในถังไม้โอ๊ค (oak) เช่น hydroxyl cinnamic acid, vanillic acid และ hydroxyl benzoic acid เป็นต้น

ไวน์แดงที่ผ่านการหมักใหม่ ๆ มักจะพบสาร phenolic ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 1000 ถึง 2000 และไวน์มีรสฝาด แต่ไวน์แดงที่ผ่านการบ่มรสฝาดของไวน์จะลดลงเนื่องจากในระหว่างการบ่มไวน์แดงจะมีปฏิกิริยาโพลีเมอร์ไรเซชันของสาร phenolic เช่น tannins และเกิดการตกตะกอนทำให้ปริมาณแทนนินในไวน์ลดลง ซึ่งเป็นรงควัตถุหลักที่มีผลต่อสีและคุณลักษณะของไวน์แดง ปริมาณแทนนินที่มีในไวน์จะช่วยให้แอนโทไซยานินและสีของไวน์มีความคงตัว ซึ่งการสัตสีของไวน์แดงสามารถวัดด้วยวิธีการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 และ 520 นาโนเมตร ค่าดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร มีความสัมพันธ์กับสีแดงที่เกิดจากเม็ดสีแอนโทไซยานิน ค่าความเข้มของสีไวน์เป็นผลรวมของค่าดูดกลืนแสงที่ 420 และ 520 นาโนเมตร ซึ่งจะบ่งชี้ความเข้มของสีแดงและค่า Hue การวัดสีไวน์ในรูปของ Hue และ color intensity หรือความหนาแน่นของสีมีความสัมพันธ์โดยตรงกับองค์ประกอบของสารให้สีในไวน์

2.5.5.3.2 อัลดีไฮด์ (Aldehyde)

อัลดีไฮด์ ที่กล่าวถึงในการผลิตไวน์ คือ อะเซทัลดีไฮด์เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักไวน์ตามปกติความเข้มข้นของอะเซทัลดีไฮด์ ที่พบในไวน์ทั่วไปประมาณ 13 ถึง 50 มิลลิกรัม/ลิตร แต่ในบางครั้งความเข้มข้นอะเซทัลดีไฮด์ อาจสูงถึง 75-100 มิลลิกรัม/ลิตร ในไวน์ที่หมักเสร็จใหม่ ๆ อะเซทัลดีไฮด์เป็นสารให้กลิ่นที่มีความสำคัญต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส ปริมาณจะสูงเมื่อเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ก่อนหมัก

2.5.5.3.3 เอสเทอร์ (Ester)

เอสเทอร์ ที่กล่าวถึงในการผลิตไวน์ คือ เอซิลอะซิเตท ที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการหมักไวน์เช่นเดียวกับ อะเซทัลดีไฮด์ เอซิลอะซิเตทมีผลต่อคุณภาพของไวน์ทางด้านประสาทสัมผัส เอซิลอะซิเตทที่ปริมาณต่ำกว่า 200 มิลลิกรัม/ลิตร จะให้กลิ่นที่น่าพอใจ ถ้าปริมาณสูงกว่านี้จะให้กลิ่นที่ไม่ดี (spoiled character) เอสเทอร์ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่

(1) กลุ่มที่เกิดจากอะซิเตท และ เอทานอล ประกอบด้วย เอซิลอะซิเตท ไอโซบิวริลอะซิเตท เฮกซิลอะซิเตท และ 2-phenethyl-acetate โดยทั่วไปในไวน์จะพบปริมาณเอซิลอะซิเตทสูงที่สุด

(2) กลุ่มที่เป็นผลจากเอทานอล และ กรดไขมันเอสเทอร์ ในกลุ่มนี้ประกอบด้วยเอซิลเอสเทอร์ ของ hexanoic acid, octanoic acid, และ ที่ผ่านกระบวนการกลั่นปัจจัยหลักที่มีผลต่อการเกิด เอสเทอร์ ได้แก่ สายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ อุณหภูมิการหมักและระดับความเข้มข้นของน้ำตาลในการหมัก

2.5.5.3.4 กรด (acid)

กรดที่ใช้ในกระบวนการหมักไวน์ส่วนมากได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก กรดแลคติก และกรดอะซิติก ตามปกติแล้วไวน์ที่มีความเข้มข้นกรดต่ำกว่า 5 กรัม/ลิตร จะได้ไวน์ที่มีความเปรี้ยวน้อย ขณะที่ความเข้มข้นกรดสูงกว่า 8 กรัม/ลิตร ไวน์ที่ได้มีความเปรี้ยวมาก สามารถแบ่งประเภทของกรดได้คือ

(1) กรดที่ระเหยไม่ได้ (fixed acid) เช่น กรดทาร์ทาริก ไวน์ที่มีความเข้มข้นของกรดทาร์ทาริกจะสูงมีความเปรี้ยวมาก และค่า pH ของไวน์จะต่ำ กรดทาร์ทาริก 1 กรัมต่อน้ำองุ่น 1 ลิตรจะช่วยเพิ่มความเข้มข้นเป็นกรดรวม (titrable acid, TA) ได้ประมาณร้อยละ 0.1 ดังนั้นการใช้กรดชนิดนี้จึงต้องหาค่ากรดรวมก่อนแล้วคำนวณเสมอ ควรระมัดระวังการใช้เพราะ กรดทาร์ทาริกที่เติมลงไปอาจทำให้ไวน์ที่ได้มีผลึกเกลือโพแทสเซียมทาร์ทเรทมากขึ้นตามไปด้วย

(2) กรดที่ระเหยได้ (volatile acid) เช่น กรดอะซิติก เป็นสารพลอยได้ที่เกิดขึ้นระหว่างขั้นตอนการหมักไวน์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการออกซิไดส์ (oxidized) แอลกอฮอล์ โดยแบคทีเรียที่ปนเปื้อนระหว่างกระบวนการหมักสำหรับกรดมาลิกเกิดการเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติก diacetyl และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระหว่างกระบวนการ malolactic fermentation ด้วยแบคทีเรียกลุ่ม *Leuconostoc* sp. และ *Lactobacillus* sp. ปริมาณกรด อะซิติกที่เกิดขึ้นควรมีเล็กน้อย โดยทั่วไปน้อยกว่า 0.03 กรัม/100 มิลลิลิตร

2.5.5.3.5 น้ำตาล (sugar)

กลูโคสและฟรุกโตสมีความสำคัญต่อกระบวนการหมักไวน์ เนื่องจากเป็นแหล่งคาร์บอนของเชื้อยีสต์ในการเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ ส่วนน้ำตาลที่ไม่ถูกใช้ในการหมักจะเป็นพวกเพนโตส (pentose) ซึ่งมีปริมาณ 0.01-0.02 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร น้ำตาลส่วนนี้อาจทำให้เกิดสารพวกเฟอฟูรัล (furfural) ในระหว่างการกลั่นและการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน และอาจทำให้จุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* เจริญได้ในระหว่างการบ่ม ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ อาจเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเนื่องจากเกิดการย่อยสลายของกลูโคไซด์ (glucoside) ปกติค่า threshold ของฟรุกโตสในไวน์อยู่ในช่วง 0.13-0.15 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร กลูโคสอยู่ในช่วง 0.40-0.44 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ส่วนซูโครสพบในไวน์อยู่ในช่วง 0.01-0.06 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร น้ำตาลมีความสำคัญต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส เพราะมีรสชาติหวาน

2.5.7 สภาพที่เหมาะสมในการเก็บไวน์

ควรมีตู้หรือสถานที่เก็บไวน์ ถ้าเป็นตู้เก็บไวน์ที่ตั้งภายในบ้านไม่ควรตั้งใกล้เตาไป แสงสว่าง และแหล่งกำเนิดความร้อน ถ้าเป็นสถานที่เก็บควรบุผนังด้วยฉนวนกันความร้อน อาจเป็นห้องใต้ดินก็ได้ จำเป็นต้องควบคุมสภาวะการเก็บขวดไวน์ในตู้ หรือสถานที่เก็บดังนี้

2.5.7.1 อุณหภูมิ ควรมีอุณหภูมิค่อนข้างสม่ำเสมอ ประมาณ 13-15 °C ไวน์จะเกิดคุณภาพที่สลับซับซ้อนหากทำการบ่มในขวดช้า ๆ หากอุณหภูมิมีการเปลี่ยนแปลงมากในระหว่างการบ่มจะทำให้ไวน์สุก พร้อมใช้ดื่มเร็วเกินไป

2.5.7.2 แสงสว่าง ไม่ควรให้ไวน์ถูกแสงสว่างโดยตรงเป็นเวลานาน จะทำให้สีของไวน์เป็นสีชาและสีหมอง ไม่จำเป็นต้องเก็บไวน์ในที่มืด อาจใช้แสงไฟสลัว ๆ และบรรจุไวน์ในขวดสีเพื่อป้องกันแสงและความร้อน

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ลูกหนามแดง	กรุงเทพ และปริมณฑล	ประเทศไทย
3.1.2 น้ำตาลทราย	ตรา มิตรผล	ประเทศไทย
3.1.3 ยีสต์	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ประเทศไทย

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต

3.2.1.1 อุปกรณ์งานครัว	ตรา หัวม้าลาย	ประเทศไทย
3.2.1.2 เครื่องปั่นผสม	Hamilton beach	สหรัฐฯ
3.2.1.3 เครื่องชั่งขนาด 500 กรัม	Ingship	-
3.2.1.4 ขวดสำหรับบรรจุ	Wellgrow Glass Industry	ประเทศไทย
3.2.1.5 ผ้าขาวบาง	กรุงเทพฯ	ประเทศไทย

3.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

3.2.2.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียด 4 ตำแหน่ง	SARTORIUS GMBH GOTTINGEN type B1209	เยอรมัน
3.2.2.2 กระบอกตวงขนาด 50, 100 ml	Pyrex	เยอรมัน
3.2.2.3 กรวยแก้วขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก	Pyrex	เยอรมัน
3.2.2.4 ขวดบรรจุสารเคมีสีชา ขนาด 500 ml	Pyrex	เยอรมัน
3.2.2.5 ขวดปรับปริมาตร ขนาด 50, 100, 250, 500 ml	Schott	เยอรมัน
3.2.2.6 บิวเรต ขนาด 250 ml	Pyrex	เยอรมัน
3.2.2.7 ปีกเกอร์ ขนาด 50, 100, 500, 1000 ml	Pyrex	เยอรมัน

3.2.2.8	ปิเปต ขนาด 1, 5, 10 ml	Pyrex	เยอรมัน
3.2.2.9	ฟลาสก์ ขนาด 250 ml	Pyrex	เยอรมัน
3.2.2.10	spectrophotometer	Hach company	เยอรมัน
3.2.2.11	12 ½" test tube	Milton roy company	-
3.2.2.12	pH meter	Eutech intruments	ญี่ปุ่น
3.2.2.13	เครื่องวัดสี	Hunter Lab	-
3.2.2.14	Hand refractometer	Atago	ญี่ปุ่น
3.2.2.15	เครื่องวัด %alcohol	-	-

3.2.3 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

3.2.3.1	กรดแกลลิก (Gallic acid, $C_7H_6O_5$)	Fluka	สเปน
3.2.3.2	กรดซิตริก (Citric acid, $H_3C_6H_5O_7$)	Ajax	ออสเตรเลีย
3.2.3.3	กรดบอริก (boric acid, H_3BO_3)	Merck	เยอรมัน
3.2.3.4	กรดออกซาลิก (Oxalic acid, $(COOH)_2 \cdot 2H_2O$)	Ajax	ออสเตรเลีย
3.2.3.5	กรดอะซิติก (Acetic acid, CH_3COOH)	J.T. Baker	สหรัฐฯ
3.2.3.6	กรดแอสคอร์บิก (L-ascorbic acid, $C_6H_8O_6$)	Ajax	ออสเตรเลีย
3.2.3.7	กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl)	Merck	เยอรมัน
3.2.3.8	ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Disodium hydrogen phosphate, Na_2HPO_4)	Ajax	ออสเตรเลีย
3.2.3.9	สารประกอบ 2,6 ไดคลอโรฟีโนลอินโดฟีนอล (2,6 dichlorophenolindophenol)	Ajax	ออสเตรเลีย

3.2.3.10 สารละลายโฟลีนรีเอเจนท์ (Folin-Ciocalteu phenol reagent)	Merck	เยอรมัน
3.2.3.11 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate, Na_2CO_3)	Ajax	ออสเตรเลีย
3.2.3.12 โซเดียมอะซิเตต (Sodium acetate, CH_3COONa)	Ajax	ออสเตรเลีย
3.2.3.13 โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (Sodium hydrogen carbonate, NaH_2CO_3)	Ajax	ออสเตรเลีย
3.2.3.14 โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium Chloride, KCl)	Ajax	ออสเตรเลีย
3.2.3.15 โพแทสเซียมเมตาไบซัลเฟต (Potassium metabisulphite, $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$)	Ajax	ออสเตรเลีย
3.2.3.16 โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (Potassium hydrogen Phthalate, $\text{C}_6\text{H}_4\text{COOHCOOK}$)	Ajax	ออสเตรเลีย
3.2.3.17 เอทานอล 95% (Ethanol, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)	องค์การสุรา ไทย	ประเทศไทย

3.3 สถานที่ในการทดลองและเก็บข้อมูล

ห้องปฏิบัติการอาหาร 710 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ พระนครใต้

ที่อยู่ 149 ถนนเจริญกรุง แขวงยานนาวา เขตสาทร กรุงเทพมหานคร 10120

โทรศัพท์ 0-2211-2052 , 0-2211-2056 โทรสาร 0-2211-2040

3.4 ระเบียบวิธีวิจัย

3.4.1 การศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์น้ำลูกหนามแดงพร้อมดื่มพาสเจอร์ไรส์

นำลูกหนามแดงที่ผ่านการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส จำนวน 500 กรัม มาละลายน้ำแข็งและ นำมาผ่าเอาเมล็ดออก จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่อง เครื่องปั่นผสม Hamilton beach จนละเอียด แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง เอาส่วนที่เป็นกากออก และกรองซ้ำอีกครั้ง ส่วนที่เป็นของเหลวที่ได้ นำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์น้ำลูกหนามแดงพร้อมดื่มพาสเจอร์ไรส์ซึ่งมีกรรมวิธีการผลิตดังนี้

3.4.1.1 วิธีการผลิตน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์พร้อมดื่ม

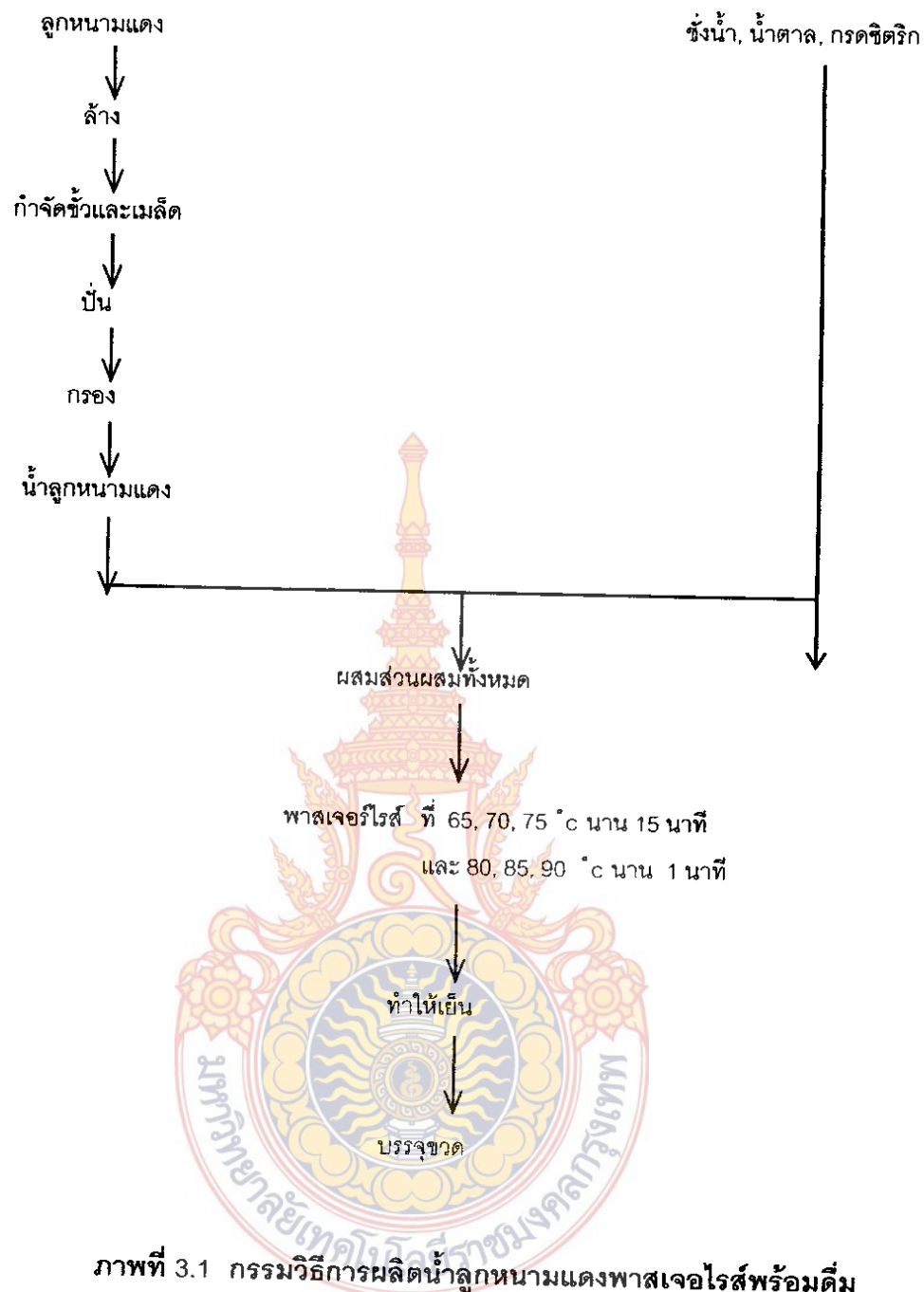
นำลูกหนามแดง ที่แช่เยือกแข็งมาผ่าครึ่ง เอาเมล็ดออก จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นอาหาร และคั้นน้ำ จากนั้นนำน้ำลูกหนามแดงที่ได้มาผลิตน้ำลูกหนามแดงพร้อมดื่ม 25% โดยมีปริมาณของส่วนผสมดังตารางที่ 3.1 และมีกรรมวิธีการผลิตดังภาพที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมของน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์พร้อมดื่ม

ส่วนผสม	ปริมาณส่วนผสม(%)
น้ำสะอาด	52.25
น้ำลูกหนามแดง	25.00
น้ำตาลทราย	22.33
กรดซิตริก	0.42

3.4.1.2 การพาสเจอร์ไรส์ลูกหนามแดง

นำน้ำลูกหนามแดงที่ได้ให้ความร้อนด้วยวิธีการพาสเจอร์ไรส์แบบ HTST (High Temperature Short Time) ที่อุณหภูมิ 80, 85 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และ LTLT (Low Temperature Long Time) ที่อุณหภูมิ 65, 70 และ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำให้เย็นทันที บรรจุตัวอย่างลงในขวดที่สะอาด เก็บตัวอย่างไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์



ภาพที่ 3.1 กรรมวิธีการผลิตน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์พร้อมดื่ม

3.4.1.3 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำลูกหมากแดง พาสเจอร์ไรส์พร้อมดื่ม

นำน้ำลูกหมากแดงที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ มาทำการเก็บรักษาในอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 สัปดาห์ และทำการวิเคราะห์ วิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานิน ดังนี้

3.4.1.3.1 การคำนวณค่าของการเปลี่ยนแปลงสี ค่า Chroma และ ค่า Hue difference ตามวิธีการของ เสกสรรค์ วงศ์ศิริ (2546)

3.4.2.3.2.1 คำนวณค่าการเปลี่ยนแปลงสีตามสูตรที่ (3)

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (3)$$

โดยที่

$$\Delta L^* = \text{ค่า } L^* \text{ ของน้ำหมากแดง 25 \% หลังการพาสเจอร์ไรส์ - } \\ \text{ค่า } L^* \text{ ของ น้ำหมากแดง 25 \% ก่อนการพาสเจอร์ไรส์}$$

$$\Delta a^* = \text{ค่า } a^* \text{ ของน้ำหมากแดง 25 \% หลังการพาสเจอร์ไรส์ - } \\ \text{ค่า } a^* \text{ ของน้ำหมากแดง 25 \% ก่อนการพาสเจอร์ไรส์}$$

$$\Delta b^* = \text{ค่า } b^* \text{ ของน้ำหมากแดง 25 \% หลังการพาสเจอร์ไรส์ - } \\ \text{ค่า } b^* \text{ ของน้ำหมากแดง 25 \% ก่อนการพาสเจอร์ไรส์}$$

3.4.2.3.2.2 คำนวณค่า Chroma ตามสูตรที่ (4)

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad (4)$$

3.4.2.3.2.3 คำนวณค่า Hue differenceตามสูตรที่ (5)

$$\Delta H^* = [(\Delta E^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2]^{1/2} \quad (5)$$

3.4.1.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดด้วยวิธี pH differential ตามวิธีการของเสกสรร วงศ์ศิริ (2546)

เตรียมสารละลายน้ำหนามแดงเจือจางที่มีน้ำหนามแดง 5 มิลลิกรัมปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิกรัมในขวดวัดปริมาตร โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่มี pH 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 และ 0.5 เก็บไว้ในที่มืด 2 ชั่วโมง นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดด้วยเครื่อง spectrophotometer สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและ pH ที่ใช้ เลือก pH ที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดและต่ำที่สุด (ในการทดลองนี้เลือกใช้ค่า pH 1.0 และ 4.5) เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดตามสูตรที่ (6)

$$T_{Acy} = \Delta O.D. \times \frac{10 \times 100}{Avg.E^{1\%}_{1cm}} \quad (6)$$

โดยที่

T_{Acy} = ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในน้ำหนามแดง (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิกรัม)

$\Delta O.D.$ = T_{OD} (pH ที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด) - T_{OD} (pH ที่ให้ค่าการดูดกลืนต่ำสุด)

$$T_{OD} = O.D. \times (100 / SV)$$

SV คือ ปริมาตรน้ำหนามแดงที่ใช้ก่อนปรับให้ครบ 100 มิลลิกรัม ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ (มิลลิกรัม)

$Avg.E^{1\%}_{1cm}$ คือ ค่าเฉลี่ยของค่า Extinction coefficient ของแอนโทไซยานิน ซึ่งการทดลองนี้ใช้ค่า $Avg.E^{1\%}_{1cm}$ ของผลแครนเบอร์รี่ที่มีค่าเท่ากับ 982 (เสกสรร วงศ์ศิริ, 2546)

สารบัฟเฟอร์ pH 1.0, 1.5 และ 2.0 ใช้สารละลายบัฟเฟอร์ Clark และ Lubs (pH 1.0 – 2.2) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ซึ่งเตรียมจากสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ปรับให้มี pH ตามต้องการ

สารละลายบัฟเฟอร์ pH 2.5, 3.0 และ 3.5 ใช้สารละลายบัฟเฟอร์ Clark และ Lubs (pH 2.2 – 4.0) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ซึ่งเตรียมจากสารละลาย potassium hydrogen phthalate ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปรับให้มี pH ตามต้องการ

สารละลายบัฟเฟอร์ pH 4.0, 4.5 และ 5.0 ใช้สารละลาย acetic acid-sodium acetate buffer ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ซึ่งเตรียมจากสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ และสารละลายโซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปรับให้มี pH ตามต้องการ

3.4.1.3.3 การวิเคราะห์ดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานินตามวิธีการของ เสกสรร วงศ์ศิริ (2546)

น้ำหนักผง 25 % 5 ml ปรับปริมาตรให้ครบ 10 ml ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่มี pH ตามที่เลือกไว้ในข้อ 3.4.2.4 เก็บไว้ในที่มืด 2 ชั่วโมง ก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดด้วยเครื่อง spectrophotometer คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดด้วยวิธี single pH ตามสูตรที่ (2) โดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายน้ำหนักผงเจือจางในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดด้วยวิธี pH differential ตามสูตรที่ (6) คำนวณดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานินตามสูตรที่ (7)

$$\text{Degradation Index} = \frac{\text{TAc by the single pH method}}{\text{TAc by the pH differential method}} \quad (7)$$

3.4.1.3.4 การวิเคราะห์ความเข้มสีทั้งหมด

เจื่อน้ำหนามแดง 25 % ด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 เก็บไว้ในที่มืด 2 ชั่วโมง ก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420,520 และ 700 นาโนเมตร คำนวณความเข้มสีทั้งหมดตามสูตรที่ (8)

$$\text{Total Color Density (O.D.units)} = [(\text{O.D.}_{420} + \text{O.D.}_{520}) - 2 (\text{O.D.}_{700})] \quad (8)$$

3.4.1.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณสีพอลิเมอร์

นำน้ำหนามแดง 25 % มาทำปฏิกิริยากับสารละลายโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟด์ ความเข้มข้น 20 % w/v ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420,520 และ 700 นาโนเมตร คำนวณปริมาณสีพอลิเมอร์ ตามสูตรที่ (9)

$$\text{Polymeric Color (O.D. units)} = [(\text{O.D.}_{420} + \text{O.D.}_{520}) - 2 (\text{O.D.}_{700})] \quad (9)$$

3.4.1.3.6 การวิเคราะห์ค่าคงที่ของการสลายตัวของแอนโทไซยานิน คำนวณหาค่าคงที่ของการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ตามสูตรที่ (10)

$$\ln (T_{Acy} / T_{Acy_0}) = -kt \quad (10)$$

โดยที่

T_{Acy}

คือ ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในน้ำหนามแดง 25 % ก่อนการเก็บรักษา

T_{Acy_0}

คือ ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในน้ำหนามแดง 25 % หลังการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา t ที่อุณหภูมิห้อง

k

คือ ค่าคงที่ของการสลายตัวของแอนโทไซยานิน (ต่อหน่วย

เวลา)

3.4.2 การศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์ไวน์ลูกหมามแดง

นำลูกหมามแดงที่ผ่านการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส จำนวน 500 กรัม มาละลายน้ำแข็งและ นำมาผ่าเอาเม็ดออก จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่อง เครื่องปั่นผสม Hamilton beach จนละเอียด แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง เอาส่วนที่เป็นกากออก และกรองซ้ำอีกครั้ง ส่วนที่เป็นของเหลวที่ได้ นำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ไวน์ซึ่งมีกรรมวิธีการผลิตดังนี้

ขั้นที่ 1 เตรียมน้ำลูกหมามแดงเพื่อการทำไวน์

นำลูกหมามแดงที่แช่แข็งแล้วออกมาให้คืนตัว แล้วนำมาล้างทำความสะอาด คำนวณเมล็ด คั้นน้ำ นำน้ำลูกหมามแดงที่ได้แบ่งออกเป็น 3 ส่วน เท่า ๆ กัน ผสมกับน้ำสะอาดในอัตราส่วน น้ำลูกหมามแดง 20%, 25% และ 30% จากนั้นวัดค่า °Brix และ pH เริ่มต้น

ขั้นที่ 2 การเติมน้ำตาลและสารอาหารที่จำเป็น

เติมน้ำตาลทรายลงในน้ำลูกหมามแดงจากขั้นตอนที่ 1 และคนให้ละลาย วัดค่าความหวานด้วย hand refractometer ให้ได้ 22 °Brix ทำการปรับค่ากรด - เบส ให้ได้ 3.5-4.5 เพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ และยับยั้งแบคทีเรียที่มีในน้ำผลไม้ การปรับ pH อาจใช้กรดแลคติก 10% หรือใช้ NaOH 1% ในกรณีนี้ที่น้ำผลไม้เป็นกรดมาก จากนั้นชั่งไดออกไซด์โพแทสเซียมในอัตราส่วน 1 กรัมต่อลิตร นำสารดังกล่าวมาละลายน้ำเล็กน้อย แล้วเติมลงในน้ำผลไม้ที่เตรียมไว้

ขั้นที่ 3 การกำจัดเชื้อยีสต์ที่ติดมากับผลไม้

โดยใช้สารเคมีโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์เติมในน้ำผลไม้ที่เตรียมได้จากข้อ 2 เติมน้ำโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 0.2 กรัมต่อลิตร ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ก่อนจะเติมน้ำเชื้อยีสต์เพื่อให้ SO_2 ที่ระเหยออกมาหมดไปไม่หลงเหลืออยู่ เพราะจะทำลายก้นเชื้อยีสต์ได้

ขั้นที่ 4 การเตรียมก้นเชื้อ Starter

เพื่อให้การหมักเป็นไปอย่างรวดเร็ว จึงใช้ก้นเชื้อ 2-5% ของปริมาตรน้ำผลไม้ การเตรียมก้นเชื้อ ทำโดยแบ่งน้ำผลไม้ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วประมาณ 20% ใส่ลงในหลอดทดลอง แล้วจึงเติมเชื้อยีสต์ลงไป โดยเติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้วประมาณ 3 ml ใช้ loop ที่เผาไฟปล่อยให้เย็น ชูดยีสต์ออกมาได้เป็น suspension แล้วเท suspension นี้ลงน้ำผลไม้ที่เตรียมไว้ทิ้งไว้ 24 ชม. ที่อุณหภูมิห้อง จะเห็นฟองก๊าซ และน้ำผลไม้ขุ่น

ขั้นที่ 5 การหมัก (Fermentation)

เทกล้ำเชื้อยีสต์ลงในน้ำผลไม้ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยภาชนะที่ใช้ต้องมีปริมาตรพอดี เมื่อเทียบกับปริมาตรน้ำผลไม้ ปล่อยทิ้งไว้จนการหมักสิ้นสุดลงคือมีปริมาณแอลกอฮอล์ประมาณ 13 %

ขั้นที่ 6 การทำให้ไวน์ใส

เมื่อสิ้นสุดการหมักไวน์ที่ได้จะขุ่นและมีตะกอนอยู่มาก ซึ่งเป็นกากของผลไม้และเซลล์ยีสต์ จึงแยกตะกอนออกด้วยวิธีการกลั่นน้ำ

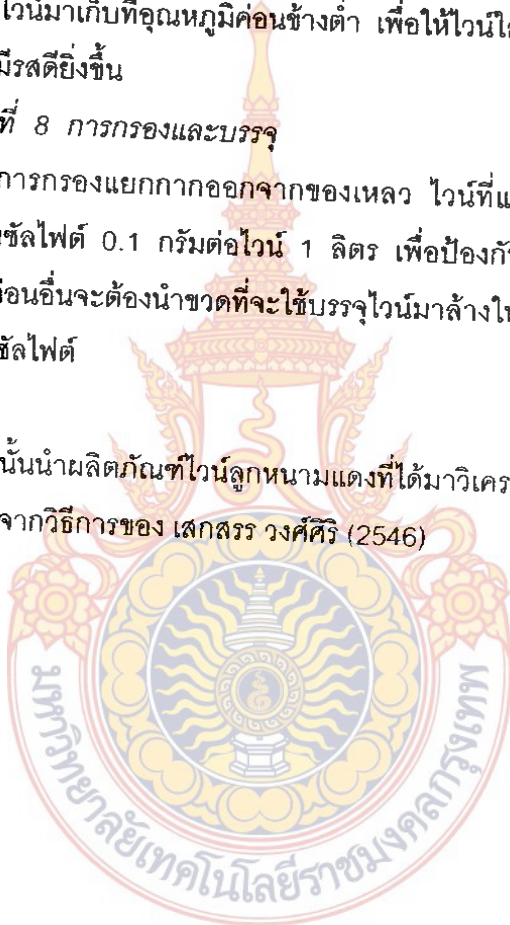
ขั้นที่ 7 การบ่มไวน์ (Aging)

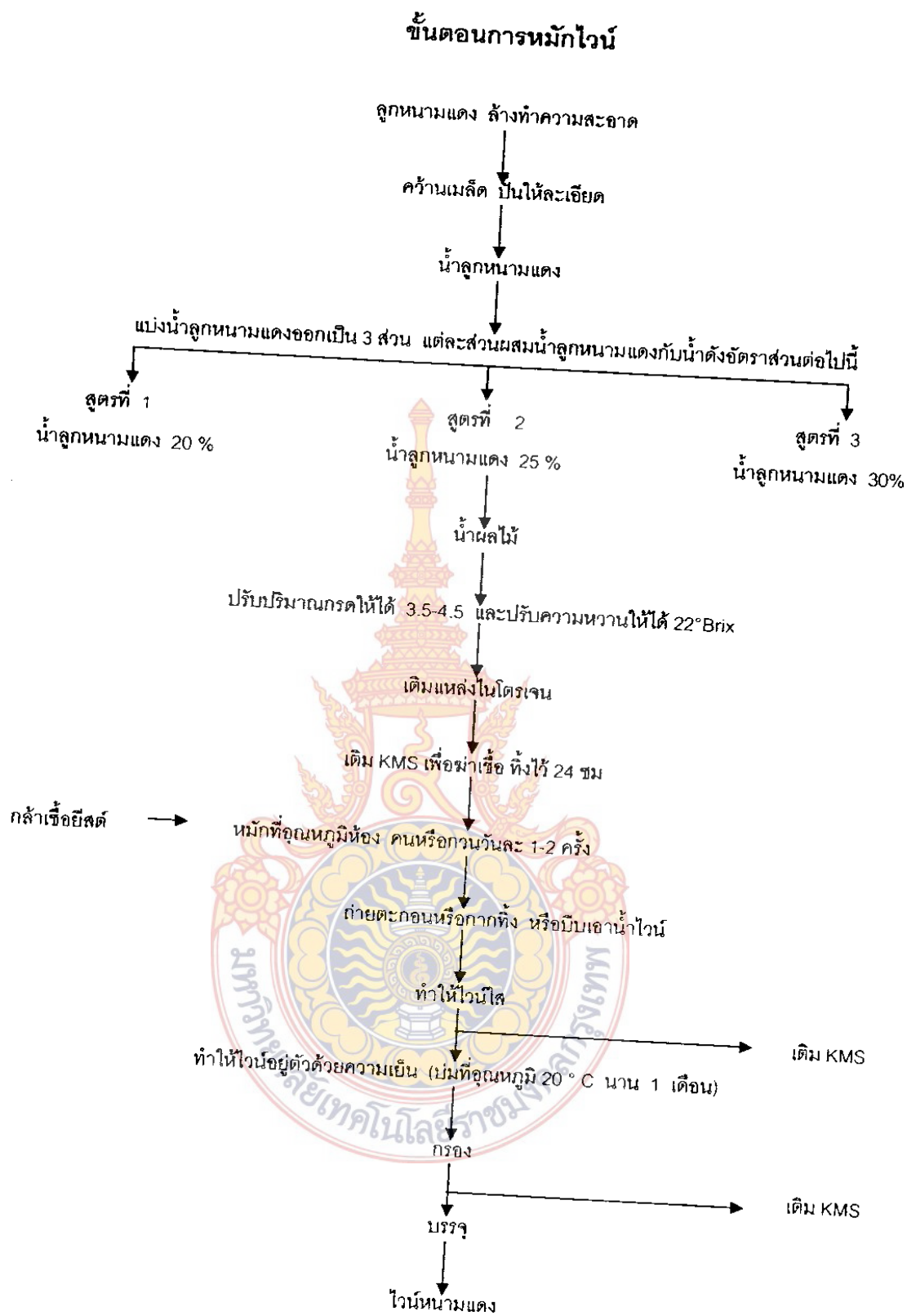
นำไวน์มาเก็บที่อุณหภูมิค่อนข้างต่ำ เพื่อให้ไวน์ใสและมีกลิ่นรสดีขึ้น ถ้าการบ่มยาวนานก็จะได้ไวน์ที่มีรสดียิ่งขึ้น

ขั้นที่ 8 การกรองและบรรจุ

ทำการกรองแยกกากออกจากของเหลว ไวน์ที่แยกได้จะใสขึ้นเรื่อย ๆ โดยเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 0.1 กรัมต่อไวน์ 1 ลิตร เพื่อป้องกันการออกซิเดชัน เมื่อได้ไวน์ที่พร้อมบรรจุในขวด ก่อนอื่นจะต้องนำขวดที่จะใช้บรรจุไวน์มาล้างให้สะอาดและวรินด้วยสารละลายโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์

จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ไวน์ลูกหนามแดงที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ในทั้งหมด โดยดัดแปลงจากวิธีการของ เสกสรรค์ วงศ์ศิริ (2546)





ภาพที่ 3.2 กรรมวิธีการผลิตไวน์หนามแดง

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์น้ำลูกหมามแดงพร้อมดื่มพาสเจอร์ไรส์

ในการผลิตน้ำผลไม้มีความจำเป็นที่ต้องทราบถึงองค์ประกอบต่างๆ ที่มีในผลไม้ ซึ่งอาจจะส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ ดังนั้น การทดลองนี้จึงได้ศึกษาถึงองค์ประกอบต่างๆ ของน้ำลูกหมามแดง โดยสกัดน้ำลูกหมามแดงแล้วนำมาตรวจสอบคุณภาพ ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 คุณภาพของน้ำคั้นที่ได้จากผลลูกหมามแดง

ลักษณะคุณภาพ	ปริมาณ
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)	8±0.400
ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (% as citric acid)	2.8±0.030
ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)	2.8±0.200
ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ¹ (mg/100 ml)	32.250±0.002
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg/100 ml)	38.439±0.011
ปริมาณวิตามินซี (µg/ml)	ไม่พบ
ค่าสี	
L*	12.467±0.006
A*	15.493±0.012
B*	3.030±0.000

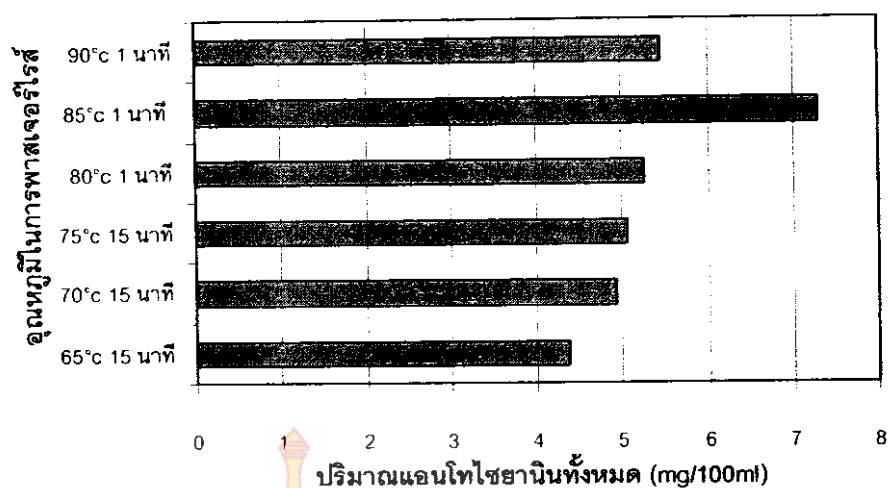
¹ ในการคำนวณใช้ค่า $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ ของผลแครนเบอร์รี่ซึ่งมีค่าเท่ากับ 982 (เสกสรร วงศ์ศิริ, 2546) และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

ในการผลิตน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์พร้อมดื่ม 25% การให้ความร้อนมีความจำเป็นเพื่อทำลายจุลินทรีย์ ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้สามารถเก็บรักษาได้นานขึ้น ซึ่งความร้อนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อจะส่งผลโดยตรงต่อเสถียรภาพของแอนโทไซยานินในน้ำลูกหนามแดง ดังนั้นการทดลองนี้จึงศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์ที่สามารถทำให้มีปริมาณแอนโทไซยานินเหลืออยู่มากที่สุด โดยการผลิตน้ำลูกหนามแดง 25% ที่มีกรดที่ไตรเตรทได้ทั้งหมด $2.8 \pm 0.03\%$ ในรูปของกรดซิตริก และของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 8 ทำการพาสเจอร์ไรส์โดยใช้อุณหภูมิและเวลา 6 ระดับคือ 65, 70 และ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และ 80, 85 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที บรรจุน้ำลูกหนามแดงที่ได้ในขวดแก้วโปร่งแสง ขนาด 150 มิลลิลิตรขนาดร้อนแล้วทำให้เย็นทันทีที่อุณหภูมิห้อง นำน้ำลูกหนามแดงที่ได้มาตรวจสอบปริมาณแอนโทไซยานินตามวิธีการในข้อ 3.4.1.4 ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.2 และ รูปที่ 4.1

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การพาสเจอร์ไรส์น้ำลูกหนามแดง 25% ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ในทุกสัปดาห์ เป็นภาวะที่ยังคงมีปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลืออยู่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับภาวะอื่นๆ โดยยังมีปริมาณแอนโทไซยานิน 7.291 มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร (ตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.1)

ตารางที่ 4.2 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการพาสเจอร์ไรส์ต่อคุณภาพของน้ำลูกหนามแดง 25%

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	Total Anthocyanin (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)
65	15	4.379
70	15	4.929
75	15	5.071
80	1	5.255
85	1	7.291
90	1	5.458



ภาพที่ 4.1 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อต่อปริมาณแอนโทไซยานิน

การให้ความร้อนกับน้ำลูกหนามแดง 25% ที่อุณหภูมิต่ำ เวลานาน ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในน้ำลูกหนามแดงลดลง แสดงให้เห็นว่า เวลาในการให้ความร้อนมีผลต่อการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำลูกหนามแดง โดยความร้อนจะทำให้สมดุลระหว่าง form ต่างๆ ของแอนโทไซยานินในน้ำลูกหนามแดงเปลี่ยนไปเป็น chalcone ซึ่งอยู่ในรูปที่ไม่มีสีมากขึ้น ขณะที่ทำการเปลี่ยนกลับมาเป็น flavylum cation ซึ่งมีสีแดงจะเกิดได้ช้าลง ทำให้สีของผลิตภัณฑ์ซีดจางลง ซึ่งกลไกการสลายตัวของแอนโทไซยานิน เนื่องจากความร้อนยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีอยู่ 3 กลไกที่น่าสนใจ คือ (ก) flavylum cation จะถูกเปลี่ยนเป็น quinonoidal base ก่อนที่จะเกิดสารตัวกลางต่างๆ ขึ้นมากมายและถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุพันธ์ของ coumarin และสารประกอบจาก (ข) flavylum cation จะถูกเปลี่ยนเป็น cabinol base ซึ่งเป็นรูปที่ไม่มีสี จากนั้นเปลี่ยนเป็น chalcone และสารผลิตภัณฑ์ที่มีสีน้ำตาล ตามลำดับ (ค) มีกลไกการสลายตัวคล้าย (ข) แต่ สารผลิตภัณฑ์ที่ได้จะแตกต่างออกไป ทั้งนี้การสลายตัวของแอนโทไซยานินทั้ง 3 แบบต่างกัน ก็ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและชนิดของแอนโทไซยานิน (เสกสรร วงศ์ศิริ, 2546) ซึ่งจากผลการทดลอง (ตารางที่ 4.2) พบว่าการให้ความร้อนแก่น้ำหนามแดงที่อุณหภูมิสูงขึ้น และใช้เวลาน้อยลง จะทำให้มีปริมาณแอนโทไซยานินหลงเหลืออยู่มากกว่า น้ำลูกหนามแดงที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำ เวลานาน

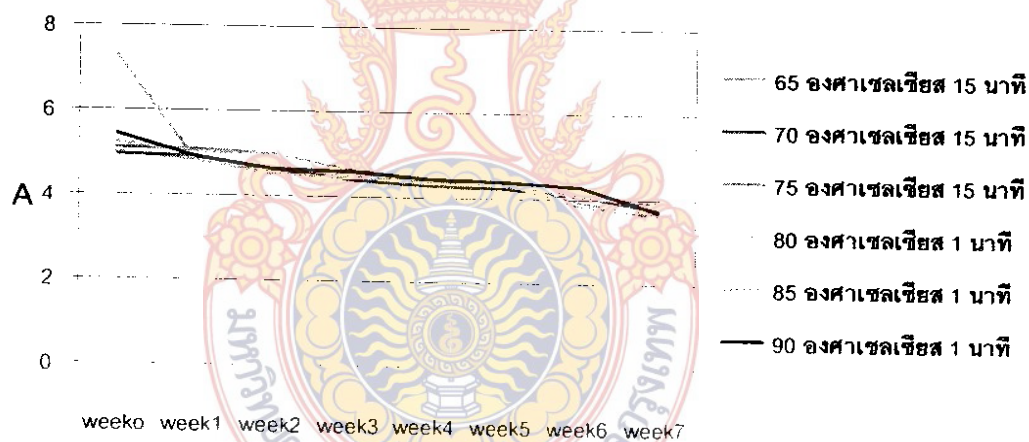
เมื่อพิจารณาค่าสีในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ระหว่างการเก็บรักษา (ตารางที่ 4.9 – 4.12) พบว่าในระหว่างการเก็บรักษาน้ำลูกหนามแดง ค่า L^* ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงค่าความสว่างของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับผลการทดลองของเสกสรร วงศ์ศิริ (2546) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านสีระหว่างการเก็บรักษาน้ำเฝ้า 25% ซึ่งมีค่าสี L^* เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา ทั้งนี้ค่า L^* ที่ลดลงเป็นผลมาจากการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานิน ในผลิตภัณฑ์ ระหว่างการเก็บรักษา ขณะที่ค่า a^* ซึ่งเป็นค่าบ่งบอกถึงสีแดงในน้ำลูกหนามแดง ระหว่างการเก็บรักษา ลดลง แสดงแนวโน้มการเกิดสีน้ำตาล (เสกสรร วงศ์ศิริ, 2546) ซึ่งสัมพันธ์กับ PC ที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.8) เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยา polymerization ของแอนโทไซยานินทำให้เกิด polymeric pigment ขึ้นในผลิตภัณฑ์ (เสกสรร วงศ์ศิริ, 2546)

จากการเปลี่ยนแปลงของค่า L^* และ a^* ดังกล่าวส่งผลให้ค่า ΔE^* ในระหว่างการเก็บรักษาของน้ำลูกหนามแดงเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับที่เวลา 0 สัปดาห์ โดยหาค่า ΔE^* ที่มากกว่า 1 แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงของสีเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (เสกสรร วงศ์ศิริ, 2546)

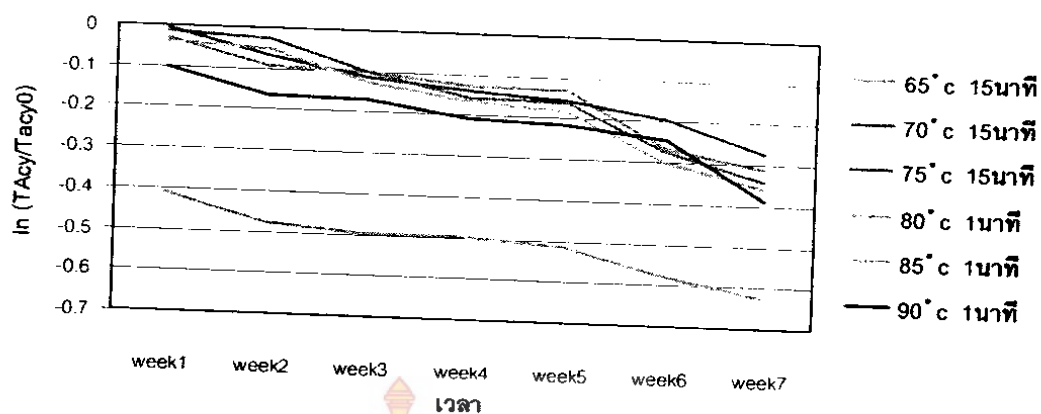
เมื่อนำค่าสีที่ได้จากการวัดในระบบ CIE L^* a^* b^* มาคำนวณเป็นค่า C^* ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความเข้มของผลิตภัณฑ์ และค่า ΔH^* ซึ่งค่าที่แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของเจดสี (ตารางที่ 4.13 และ 4.14) พบว่าในระหว่างการเก็บรักษาน้ำลูกหนามแดง ค่า ΔH^* เพิ่มขึ้นแสดงให้เห็นว่าในระหว่างการเก็บรักษา มีการเปลี่ยนแปลงของเจดสีเกิดขึ้น ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับผลการทดลองของ เสกสรร วงศ์ศิริ (2546) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาน้ำเฝ้า 25% พบว่า ผลิตภัณฑ์มีค่า เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา ขณะที่ค่า C^* ของน้ำลูกหนามแดง มีค่าลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ทั้งนี้เป็นผลมาจากการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินในระหว่างการเก็บรักษาทำให้สีแดงของผลิตภัณฑ์ลดลง แสดงให้เห็นว่าน้ำลูกหนามแดง มีความเข้มของสีลดลงซึ่งสัมพันธ์ กับ TCD ที่ลดลงเช่นกัน (ตารางที่ 4.7) ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ ผลการทดลองของ เสกสรร วงศ์ศิริ (2546) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ ระหว่างการเก็บรักษาน้ำเฝ้า 25% ที่พบว่าผลิตภัณฑ์น้ำเฝ้า 25% มีค่า C^* ลดลงระหว่างการเก็บรักษา เนื่องจากมีการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินเกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาทำให้ความเข้มของสีแดงในผลิตภัณฑ์ลดลง

ตารางที่ 4.3 ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ (มิลลิกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร)					
	65°c 15 นาที	70°c 15 นาที	75°c 15 นาที	80°c 1 นาที	85°c 1 นาที	90°c 1 นาที
0	4.990	4.949	5.132	5.255	7.291	5.458
1	4.847	4.929	5.071	5.051	4.847	4.929
2	4.542	4.623	5.010	4.990	4.521	4.623
3	4.501	4.420	4.644	4.623	4.44	4.603
4	4.399	4.297	4.399	4.46	4.440	4.440
5	4.379	4.236	4.379	4.379	4.358	4.399
6	3.829	4.073	3.910	3.890	4.094	4.277
7	3.646	3.768	3.646	3.666	3.910	3.707



ภาพที่ 4.2 ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.3 ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในน้ำลูกหมามแดงที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสง ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เมื่อ T_{Acy} คือ ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในน้ำลูกหมามแดงหลังจากเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ และ T_{Acy_0} คือปริมาณแอนโทไซยานินเริ่มต้นในน้ำลูกหมามแดงก่อนการเก็บรักษา

ตารางที่ 4.4 ค่าคงที่ของการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ในน้ำลูกหมามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างเก็บรักษา

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ค่าคงที่ของการสลายตัวของแอนโทไซยานิน : k (ต่อสัปดาห์)					
	65°c 15นาทื	70°c 15นาทื	75°c 15นาทื	80°c 1นาทื	85°c 1นาทื	90°c 1นาทื
1	-0.029	-0.004	-0.012	-0.040	-0.408	-0.102
2	-0.094	-0.068	-0.024	-0.052	-0.478	-0.166
3	-0.103	-0.113	-0.100	-0.128	-0.496	-0.170
4	-0.126	-0.141	-0.154	-0.164	-0.496	-0.206
5	-0.131	-0.156	-0.159	-0.182	-0.515	-0.216
6	-0.265	-0.195	-0.272	-0.301	-0.577	-0.244
7	-0.314	-0.273	-0.342	-0.360	-0.623	-0.387

ตารางที่ 4.5 ดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานิน (DI)					
	65°c 15นาท	70°c 15นาท	75°c 15นาท	80°c 1นาท	85°c 1นาท	90°c 1นาท
0	6.463	6.516	6.284	6.137	4.423	5.909
1	6.654	6.543	6.360	6.385	6.654	6.543
2	7.100	6.976	6.437	6.463	7.133	6.976
3	7.165	7.296	6.944	6.976	7.264	7.006
4	7.331	7.505	7.331	7.231	7.264	7.264
5	7.365	7.613	7.365	7.365	7.400	7.331
6	8.423	7.918	8.248	8.290	7.877	7.540
7	8.845	8.559	8.845	8.797	8.248	8.700

ตารางที่ 4.6 ความเข้มข้นทั้งหมดในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ความเข้มข้นทั้งหมด/TCD (O.D. units)					
	65°c 15นาท	70°c 15นาท	75°c 15นาท	80°c 1นาท	85°c 1นาท	90°c 1นาท
0	0.839	1.151	1.091	1.063	1.021	1.183
1	1.611	1.045	1.059	1.03	1.014	1.028
2	1.019	1.017	0.938	0.855	0.922	0.872
3	1.014	0.894	0.893	0.841	0.864	0.858
4	0.895	0.817	0.755	0.779	0.839	0.838
5	0.830	0.757	0.723	0.748	0.802	0.824
6	0.796	0.601	0.659	0.678	0.662	0.701
7	0.651	0.599	0.655	0.601	0.619	0.631

ตารางที่ 4.7 ปริมาณสีเพอร์เมอริกในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ปริมาณสีเพอร์เมอริก/PC (O.D. units)					
	65°c 15นาทื	70°c 15นาทื	75°c 15นาทื	80°c 1นาทื	85°c 1นาทื	90°c 1นาทื
0	0.853	0.893	0.853	0.834	0.056	0.855
1	0.895	0.896	0.853	0.834	0.821	0.855
2	0.943	0.896	0.88	0.873	0.821	0.873
3	0.951	0.911	0.912	0.929	0.895	0.901
4	0.951	0.993	0.945	0.948	0.931	0.944
5	0.97	1.014	0.992	0.978	0.963	0.949
6	0.981	1.019	1.005	0.983	0.975	1.005
7	1.053	1.084	1.186	1.029	1.032	1.006

ตารางที่ 4.8 ค่าสี L* ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ค่าสี L*					
	65°c 15นาทื	70°c 15นาทื	75°c 15นาทื	80°c 1นาทื	85°c 1นาทื	90°c 1นาทื
0	8.700±0.026	8.690±0.210	7.597±0.031	6.537±0.067	6.127±0.076	6.413±0.074
1	9.583±0.110	10.573±0.015	10.227±0.040	10.227±0.131	10.413±0.031	10.300±0.020
2	10.407±0.015	10.783±0.031	10.293±0.017	10.720±0.035	10.473±0.020	10.35±0.036
3	10.843±0.011	10.83±0.015	10.340±0.012	10.743±0.016	10.803±0.041	10.513±0.040
4	10.863±0.017	11.170±0.060	10.783±0.009	10.963±0.013	11.153±0.050	10.633±0.027
5	11.327±0.009	11.903±0.011	11.277±0.025	11.337±0.020	11.497±0.007	10.767±0.020
6	12.057±0.037	13.033±0.011	11.707±0.012	11.450±0.042	11.517±0.007	10.910±0.025
7	13.037±0.020	13.63±0.061	13.610±0.146	11.860±0.006	11.533±0.045	11.373±0.009

ตารางที่ 4.9 ค่าสี a^* ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ค่าสี a^*					
	65°C 15 นาที	70°C 15 นาที	75°C 15 นาที	80°C 1 นาที	85°C 1 นาที	90°C 1 นาที
0	11.373±0.001	12.56±0.006	13.233±0.017	13.14±0.012	13.17±0.006	13.527±0.009
1	10.91±0.000	12.443±0.018	13.047±0.012	12.973±0.009	12.747±0.012	12.763±0.015
2	10.767±0.000	12.027±0.014	13.04±0.010	12.73±0.006	12.65±0.012	12.717±0.014
3	10.633±0.001	11.453±0.007	12.843±0.010	12.477±0.021	11.9±0.079	12.22±0.012
4	10.513±0.000	11.387±0.025	12.113±0.067	11.483±0.028	11.757±0.007	11.767±0.005
5	10.35±0.030	10.567±0.010	10.23±0.000	10.213±0.009	11.287±0.016	11.35±0.030
6	10.3±0.000	9.147±0.118	8.723±0.057	8.34±0.040	6.78±0.103	7.853±0.178
7	6.413±0.000	5.573±0.236	6.393±0.423	5.013±0.199	4.173±0.139	3.403±0.283

ตารางที่ 4.10 ค่าสี b^* ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ค่าสี b^*					
	65°C 15 นาที	70°C 15 นาที	75°C 15 นาที	80°C 1 นาที	85°C 1 นาที	90°C 1 นาที
0	3.450±0.000	3.133±0.000	4.257±0.030	3.013±0.006	3.370±0.006	4.097±0.006
1	2.750±0.259	2.180±0.123	1.800±0.235	2.160±0.137	1.937±0.169	2.153±0.190
2	3.263±0.012	3.587±0.006	3.837±0.015	3.917±0.015	3.650±0.010	3.703±0.015
3	3.510±0.010	3.663±0.015	4.647±0.045	4.217±0.025	3.870±0.020	3.580±0.020
4	0.817±0.153	0.623±0.372	1.233±0.130	0.403±0.208	0.433±0.278	0.267±0.165
5	3.470±0.010	3.350±0.050	4.040±0.020	4.507±0.012	4.187±0.015	4.677±0.015
6	3.317±0.055	3.373±0.025	4.227±0.050	4.393±0.045	4.540±0.062	4.627±0.065
7	3.343±0.071	3.497±0.015	3.447±0.040	4.120±0.062	4.240±0.035	4.230±0.030

ตารางที่ 4.11 ค่า ΔE^* ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสง ระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ΔE^*					
	65°c 15นาท	70°c 15นาท	75°c 15นาท	80°c 1นาท	85°c 1นาท	90°c 1นาท
0	1.577	1.073	0.517	0.805	2.212	2.178
1	1.577	1.086	0.54	1.186	3.151	2.254
2	2.164	1.19	0.629	1.308	3.151	2.774
3	2.164	1.19	0.858	1.422	3.155	2.774
4	2.847	1.313	1.083	1.614	3.193	2.863
5	3.708	1.439	1.083	1.614	3.24	2.863
6	3.966	2.135	2.128	2.353	3.444	2.968
7	4.115	2.135	2.128	2.353	3.444	3.163

ตารางที่ 4.12 ค่า C^* ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสงระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลา (สัปดาห์)	C^*					
	65°c 15นาท	70°c 15นาท	75°c 15นาท	80°c 1นาท	85°c 1นาท	90°c 1นาท
0	14.134	13.171	13.593	13.658	12.176	12.276
1	13.901	13.152	13.319	13.17	11.77	12.039
2	13.594	12.943	13.245	12.734	11.765	11.163
3	13.481	12.893	13.166	12.513	11.49	11.085
4	12.945	12.633	12.551	12.025	11.464	11.085
5	12.945	12.633	12.551	12.025	11.404	10.999
6	11.885	11.251	11.251	11.197	10.545	10.916
7	11.885	11.251	11.251	11.197	10.545	10.916

ตารางที่ 4.13 ค่า ΔH^* ในน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% ที่บรรจุในขวดแก้วโปร่งแสง ระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ΔH^*					
	65°c 15นาท	70°c 15นาท	75°c 15นาท	80°c 1นาท	85°c 1นาท	90°c 1นาท
0	0.015	0.016	0.467	0.513	1.832	0.745
1	0.015	0.016	0.501	0.808	1.986	0.745
2	0.066	0.934	0.545	0.808	1.986	0.938
3	0.27	0.934	0.572	0.887	2.347	0.938
4	0.615	1.029	0.572	0.893	2.347	1.386
5	0.615	1.065	0.595	0.893	2.596	1.577
6	0.665	1.24	0.595	1.063	2.605	1.854
7	0.892	1.434	0.704	1.368	2.782	2.068

4.2 ผลการศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์ไวน์ลูกหนามแดง

4.2.1 ผลการศึกษาการคำนวณค่าของการเปลี่ยนแปลงสี ค่า Chroma และ ค่า Hue difference

เมื่อพิจารณาค่าสีในไวน์หนามแดง พบว่าค่า L^* ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสว่างของไวน์หนามแดงมีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์มีการปนของเนื้อและเปลือกของลูกหนามแดงที่ใส่ในระหว่างการหมักทำให้ความสว่างของไวน์ลดลง ขณะที่ค่า a^* ซึ่งเป็นค่าที่บอกสีแดงในไวน์หนามแดงเพิ่มขึ้นในช่วงการหมักถึงหลังหมัก สอดคล้องกับผลการทดลองของ เกียรติศักดิ์ พลสงคราม (2547) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีในการผลิตไวน์แดงจากลูกหน่า โดยพบว่าสีแดงเกิดจากสารละลาย เอทานอลในไวน์สกัดแอนโทไซยานินออกมาจากเปลือกลูกหน่า ซึ่งสีไวน์จะเข้มข้นเรื่อย ๆ ในขณะที่สีจากเปลือกลูกหนามแดงจะจางลงเรื่อย ๆ จนมีสีชมพูอ่อน ๆ และค่า a^* ในช่วงหลังหมักจนถึงก่อนบรรจุขวดจะลดลง แสดงแนวโน้มการเกิดสีน้ำตาล (เสกสรร วงศ์ศิริ, 2546) ซึ่งสัมพันธ์กับ PC ที่เพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 4.14 เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยา polymerization ของแอนโทไซยานินทำให้เกิด polymeric pigment ขึ้นในผลิตภัณฑ์

จากการเปลี่ยนแปลงของค่า L^* และ a^* ดังแสดงผลให้ค่า ΔE^* เมื่อเทียบระหว่างก่อนหมักและหลังมีค่าเท่ากับ 19.522 และค่า ΔE^* เมื่อเทียบระหว่างก่อนหมักและก่อนบรรจุขวดมีค่าเท่ากับ 1.061 โดยถ้าค่า ΔE^* ที่มากกว่า 1 แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงของสีเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (เสกสรร วงศ์ศิริ, 2546)

เมื่อนำค่าสีที่ได้จากการวัดในระบบ CIE L^* a^* b^* มาคำนวณเป็นค่า C^* ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความเข้มของผลิตภัณฑ์ และค่า ΔH^* ซึ่งค่าที่แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของเฉดสี ดังแสดงในตารางที่ 4.15 พบว่าในระหว่างการหมักไวน์ และระหว่างการบ่มไวน์ ค่า ΔH^* เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าในระหว่างการหมักไวน์ และระหว่างการบ่มไวน์ มีการเปลี่ยนแปลงของเฉดสีเกิดขึ้น ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับผลการทดลองของ เสกสรร วงศ์ศิริ (2546) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาน้ำเมา 25% พบว่า ผลิตภัณฑ์มีค่าเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา ขณะที่ค่า C^* ของไวน์หนามแดงก่อนหมักเทียบกันหลังหมัก และก่อนหมักเทียบกับก่อนบรรจุขวด มีค่าลดลง ทั้งนี้เป็นผลมาจากการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินทำให้สีแดงของผลิตภัณฑ์ลดลงแสดงให้เห็นว่าไวน์หนามแดง มีความเข้มของสีลดลงซึ่งสัมพันธ์กับ TCD (total color density : ความเข้มสีทั้งหมด) ที่ลดลงเช่นกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.3 ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ ผลการทดลองของ เสกสรร วงศ์ศิริ (2546) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาน้ำเมา 25% ที่พบว่าผลิตภัณฑ์น้ำเมา 25% มีค่า C^* ลดลงระหว่างการเก็บรักษา เนื่องจากการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินเกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาทำให้ความเข้มของสีแดงในผลิตภัณฑ์ลดลง

ตารางที่ 4.14 ผลของระยะเวลาการในการหมักและบ่มต่อคุณภาพของไวน์หนามแดง

ระยะเวลาที่ตรวจสอบ	Total anthocyanin (%retention)	ดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานิน (DI)	ความเข้มสีทั้งหมด/TCD (O.D. units)	ปริมาณสีเพอร์เมอริก/PC (O.D. units)
ก่อนหมัก	11.334	2.843	0.430	0.286
หลังหมัก	1.853	17.404	0.311	0.397
ก่อนบรรจุ	1.222	26.391	0.144	0.461

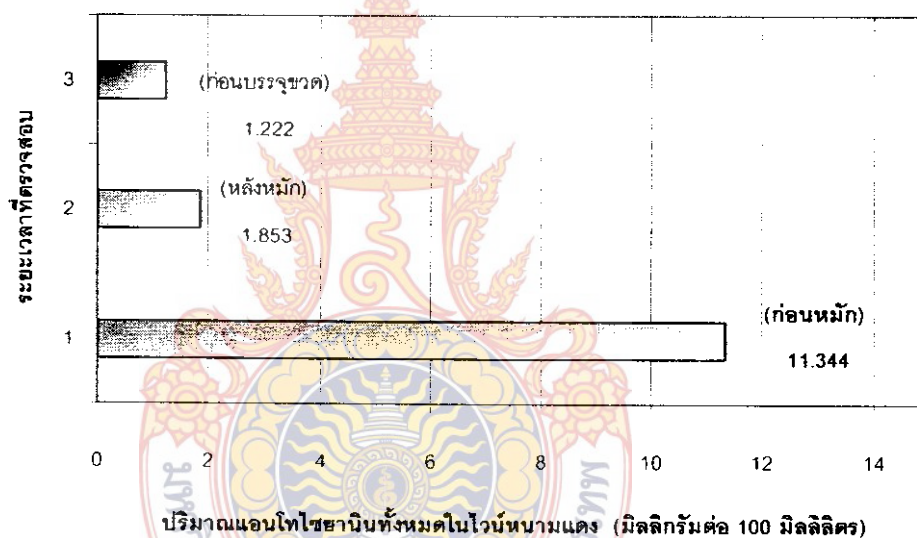
ตารางที่ 4.15 ผลของระยะเวลาการในการหมักและบ่มต่อค่าสีของไวน์หนามแดง

ระยะเวลาที่ตรวจสอบ	L^*	a^*	b^*	ΔE^*	C^*	ΔH^*
ก่อนหมัก	37.95±0.010	10.30±0.006	4.20±0.010	-	-	-
หลังหมัก	35.63±0.170	29.48±0.284	7.00±0.111	19.522	30.309	2.825
ก่อนบรรจุ	34.65±0.0128	29.12±0.101	6.81±0.038	19.285	29.906	2.869

4.2.2 ผลการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดด้วยวิธี

pH Differential

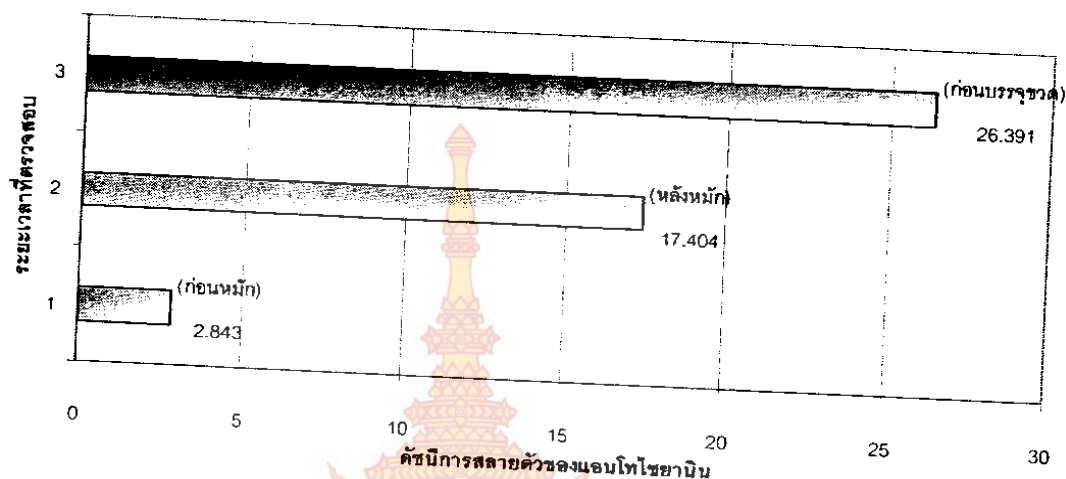
จากการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ไวน์หนามแดง เมื่อเทียบกับปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำคั้นที่ได้จากผลลูกหนามแดง ตารางที่ 4.1 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 38.439 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร พบว่าก่อนหมักมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเท่ากับ 11.344 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาณลดลงเกิดจากการเจือจางน้ำคั้นที่ได้จากลูกหนามแดงก่อนการหมัก หลังหมักปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดลดลงเท่ากับ 1.853 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร อาจเกิดจากระยะเวลาในการหมักมีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานิน และก่อนบรรจุมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเท่ากับ 1.222 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าปริมาณแอนโทไซยานินมีแนวโน้มลดลง น่าจะเป็นอิทธิพลมาจากแสงสว่างในระหว่างการบ่มไวน์ในขวดพลาสติกใส ดังแสดงในภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 กราฟแสดงปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในไวน์หนามแดง (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)

4.2.3 ผลการศึกษาการวิเคราะห์ดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานิน

การเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์ไวน์ นอกจากจะเกิดในระหว่างกระบวนการหมักแล้ว ยังเกิดขึ้นในระหว่างการบ่มไวน์อีกด้วย โดยการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานินระหว่างการหมักและบ่มไวน์อาจมีปัจจัยต่าง ๆ เข้ามาเกี่ยวข้องหลายปัจจัย เช่น แสง สารละลายเอทานอลในไวน์ ออกซิเจน เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวส่งผลโดยตรงต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์

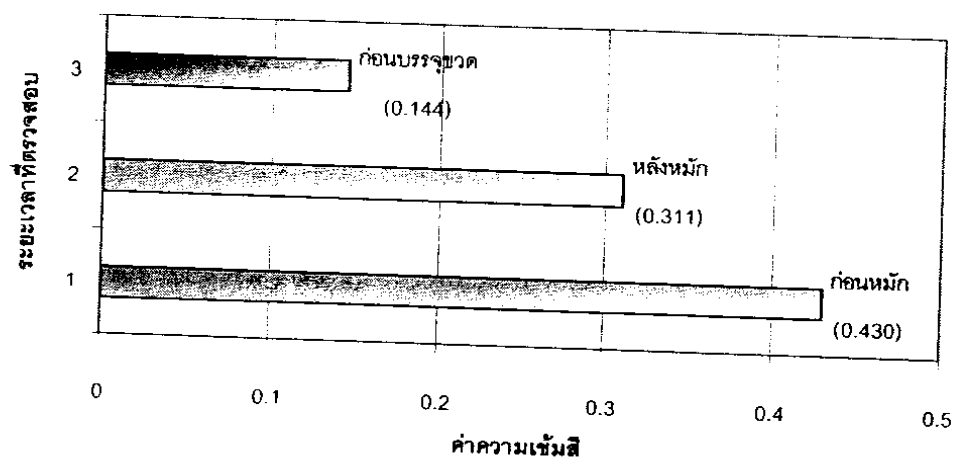


ภาพที่ 4.5 กราฟแสดงดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานินในไวน์หนามแดง

จากภาพที่ 4.5 พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในไวน์ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับค่า DI (degradation index : ดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานิน) และ PC (polymeric color : ปริมาณสีพอลิเมอร์) ที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้ TCD (total color density : ความเข้มสีทั้งหมด) มีแนวโน้มลดลง ก่อนหมักไวน์มีดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานินเท่ากับ 2.843 หลังหมักไวน์มีดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานินเท่ากับ 17.404 และก่อนบรรจุขวดมีดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานินเท่ากับ 26.391

4.2.4 ผลการศึกษาการวิเคราะห์ความเข้มสีทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ความเข้มสีทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ไวน์หนามแดง พบว่าก่อนหมักไวน์มีค่าความเข้มสีเท่ากับ 0.430 หลังหมักไวน์มีค่าความเข้มสีเท่ากับ 0.311 และก่อนบรรจุขวดมีค่าความเข้มสีเท่ากับ 0.144 จะเห็นว่าค่าสีมีแนวโน้มลดลง ดังแสดงในภาพที่ 4.6 ซึ่งสอดคล้องกับค่า DI (degradation index : ดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานิน) และ PC (polymeric color : ปริมาณสีพอลิเมอร์) ที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในไวน์ลดลง



ภาพที่ 4.6 กราฟแสดงค่าความเข้มสีในไวน์หนามแดง

4.2.5 ผลการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณสีฟอลิเมอริก

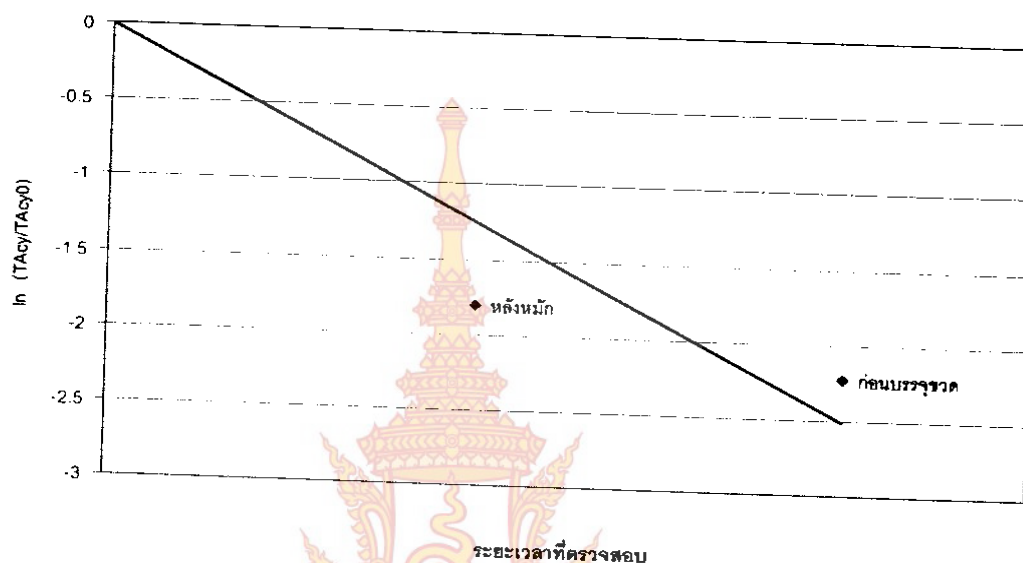
จากการวิเคราะห์ปริมาณสีฟอลิเมอริกในไวน์หนามแดง พบว่าค่าสีฟอลิเมอริกในผลิตภัณฑ์ไวน์หนามแดงมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นดังนี้คือ การหมักมีค่าสีฟอลิเมอริกเท่ากับ 0.286 หลังหมักมีค่าสีฟอลิเมอริกเท่ากับ 0.397 และก่อนบรรจุขวดมีค่าสีฟอลิเมอริกเท่ากับ 0.461 ดังแสดงในภาพที่ 4.7 ซึ่งสอดคล้องกับ ค่า DI (degradation index : ดัชนีการสลายตัวของแอนโทไซยานิน) ที่เพิ่มสูงส่งผลให้ TCD (total color density : ความเข้มสีทั้งหมด) และปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในไวน์ลดลง



ภาพที่ 4.7 กราฟแสดงปริมาณสีฟอลิเมอริกในไวน์หนามแดง

4.2.6 ผลการวิเคราะห์ค่าคงที่ของการสลายตัวของแอนโทไซยานิน

เมื่อสร้างกราฟระหว่างค่า natural logarithm ($\ln$) ของปริมาณแอนโทไซยานิน คงเหลือในไวน์หนามแดง ระหว่างหลังหมัก และก่อนบรรจุขวด ต่อปริมาณแอนโทไซยานินก่อนการหมัก พบว่ากราฟที่ได้มีความสัมพันธ์กันในเชิงเส้นตรง (linear) แสดงว่า แอนโทไซยานินในไวน์หนามแดง จะมีอัตราการสลายตัวตลอดเวลาการหมักและบ่ม จากกราฟการสลายตัวของแอนโทไซยานินในไวน์หนามแดง พบว่าไวน์หนามแดงมีค่า k เท่ากับ -1.81 และ -2.23



ภาพที่ 4.8 ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือในไวน์หนามแดงเมื่อ $TAcy$ คือปริมาณแอนโทไซยานินในไวน์หนามแดงหลังหมัก และก่อนบรรจุขวด และ $TAcy_0$ คือปริมาณแอนโทไซยานินในไวน์หนามแดงก่อนหมัก

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

1. น้ำคั้นที่ได้จากลูกหนามแดงมี $\text{pH } 2.8 \pm 0.200$ ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เท่ากับ $8 \pm 0.4^\circ \text{Brix}$, ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด $32.250 \pm 0.002 \text{ mg/100 ml}$ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด $38.439 \pm 0.011 \text{ mg/100 ml}$ และตรวจไม่พบวิตามินซี
2. ระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% มีผลต่อสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ ค่า ΔE^* และค่า ΔH^* ของน้ำลูกหนามแดงเพิ่มขึ้นตลอดเวลาระหว่างการเก็บรักษา แสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสีเมื่อเทียบกับตัวอย่างเริ่มต้น รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของเฉดสีในระหว่างการเก็บรักษาด้วย
3. จากการศึกษาการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไวน์หนามแดงที่ได้รับการยอมรับมากที่สุด พบว่าระยะเวลาในการหมักและแสงสว่างในระหว่างการบ่มไวน์ในขวดพลาสติกใสมีผลต่อปริมาณฟีนอลิก ซึ่งปริมาณฟีนอลิกจะเพิ่มขึ้นในช่วงการหมัก เนื่องจากการหมักเป็นแบบ must (การหมักที่มีการใส่กากลูกหนามแดงลงไปด้วย) แต่ปริมาณฟีนอลิกจะลดลงอีกครั้งเมื่อทำการบ่ม ค่า ΔE^* มีแนวโน้มลดลง แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงของสีเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า และค่า ΔH^* ของไวน์หนามแดงเพิ่มขึ้นแสดงให้เห็นว่าในระหว่างการหมักไวน์ และระหว่างการบ่มไวน์ มีการเปลี่ยนแปลงของเฉดสีเกิดขึ้น ค่า C^* ของไวน์หนามแดงมีค่าลดลง เป็นผลมาจากการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานิน ทำให้สีแดงของผลิตภัณฑ์ลดลงซึ่งสัมพันธ์ กับ TCD ที่ลดลงเช่นกัน



บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

1. น้ำคั้นที่ได้จากลูกหนามแดงมี pH 2.8 ± 0.200 ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เท่ากับ 8 ± 0.4 °Brix , ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด 32.250 ± 0.002 mg/100 ml และตรวจไม่พบวิตามินซี
2. ระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำลูกหนามแดงพาสเจอร์ไรส์ 25% มีผลต่อสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ ค่า ΔE^* และค่า ΔH^* ของน้ำลูกหนามแดงเพิ่มขึ้นตลอดเวลาระหว่างการเก็บรักษา แสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสีเมื่อเทียบกับตัวอย่างเริ่มต้น รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของเฉดสีในระหว่างการเก็บรักษาด้วย
3. จากการศึกษาการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไวน์หนามแดงที่ได้รับการยอมรับมากที่สุด พบว่าระยะเวลาในการหมักและแสงสว่างในระหว่างการบ่มไวน์ในขวดพลาสติกใสมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเฉดสีเกิดขึ้น ค่า C^* ของไวน์หนามแดงมีค่าลดลง เป็นผลมาจากการเสื่อมสลายของแอนโทไซยานิน ทำให้สีแดงของผลิตภัณฑ์ลดลงซึ่งสัมพันธ์ กับ TCD ที่ลดลงเช่นกัน



บรรณานุกรม

- กนกพร คงหอม. 2547. ผลของน้ำตาลที่มีต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินในน้ำลูกหว่าหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กนกพร ศรีม่วง. 2546. ผลของน้ำคั้นจากผลยอ (*Morinda citrifolia* Linn.) ต่อ การเจริญของยีสต์ทำไวน์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- เกียรติศักดิ์ พลสงคราม. 2547. การผลิตไวน์แดงจากลูกหว่า. รายงานการวิจัย. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพายัพ.
- จารวี สุขประเสริฐ. 2547. การคัดเลือกสารสกัดจากพืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการผลิตไวน์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- จิตติมา ดำรงวัฒนา. 2547. มะไฟลี (ศึกษาปัญหา และอุปสรรค และแนวทางในการแก้ไขการรวมกลุ่มทำไวน์มะไฟลีของกลุ่มรักสมุนไพรบ้านปลายอวน อำเภอพรหมคีรี จังหวัดนครศรีธรรมราช). โปรแกรมวิชาการพัฒนาชุมชน. คณะมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.
- นิจศิริ เรืองรังสี. 2547. สมุนไพรไทย เล่ม 1. กรุงเทพฯ : บีเฮลท์ดี.
- ประดิษฐ์ คุรุวัฒนา. 2546. ไวน์ : ศาสตร์และศิลป์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พงศ์กลม พงศ์สยาม. 2547. การใช้วิธีทำให้เข้มข้นในการผลิตไวน์หม่อน (*Morus alba* L.). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- รุ่งทิวา วงศ์ไพศาลฤทธิ์. 2549. สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์การอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

- ศุภสิทธิ์ ดีรักษา. 2548. การเปรียบเทียบคุณภาพไวน์มั่งคุดที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติและเชื้อยีสต์บริสุทธิ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- เสกสรร วงศ์ศิริ. 2546. ผลของกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาต่อเสถียรภาพของแอนโทไซยานินในน้ำเม่า. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อริชิต ชื่นชูจิตร์. 2545. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสปาร์คลิงไวน์หม่อน *Morus alba* L. โดยวิธีหมักในขวด. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย3
- เอี่ยมพร วิสมหมาย. ม.ป.ป. "ฐานข้อมูลพรรณไม้ที่ใช้ในงานสถาปัตยกรรม" [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก : <http://158.108.89.200/agbbcc/Plant%20for%20Landscape%20WebSite/Webpage/Shrubs/%E0%B8%AB%E0%B8%99%E0%B8%B2%E0%B8%A1%E0%B9%81%E0%B8%94%E0%B8%87.html> (วันที่สืบค้น 27 ธันวาคม 2550)

