บทที่ 3

การทดลอง

วัตถุดิบในการผลิตไวน์หม่อน

1. ผลหม่อน (*Morus alba* L.) โดยได้รับความอนุเคราะห์จากสถานีวิจัยหม่อนไหม จังหวัดเชียงใหม่ สถานีวิจัยหม่อนไหมจังหวัดแพร่ สถานีวิจัยหม่อนไหมจังหวัดสกลนคร และสถานีวิจัยหม่อนไหมจังหวัดอุตรดิตถ์ ผลหม่อนพันธุ์ที่ใช้คือ พันธุ์บุรีรัมย์ 60 ระหว่างการทดลองเก็บผลหม่อนที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ก่อนใช้นำมาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้อง

2. diammonium hydrogen phosphate	A.R. grade
3. citric acid	Food grade
4. potassium metabisulphite	Food grade

สารเคมี

1. สารเคมีที่ใช้การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์

phosphoric acid	A.R. grade
citric acid	A.R. grade
malic acid	A.R. grade
succinic acid	A.R. grade
tartaric acid	A.R. grade

2. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ชนิดของรงควัตถุ

ammonium hydroxide 25%	A.R. grade
ethanol	A.R. grade
hydrochloric acid	A.R. grade
ethyl acetate	A.R. grade
acetic acid	A.R. grade
formic acid	A.R. grade
N-butanol	A.R. grade

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

methanol	HPLC grade

3. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

decolorizing charcoal	A.R. grade
hyflo super-gel	A.R. grade
copper sulfate	A.R. grade
sodium potassium tartrate	A.R. grade
glucose	A.R. grade
lead acetate	A.R. grade
glacial acetic acid	A.R. grade

4. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดและกรดระเหย

sodium hydroxide	A.R. grade
phenolphthalein	A.R. grade

5. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณกลีเซอรอล

calcium oxide	A.R. grade
ethyl alcohol	A.R. grade
absolute alcohol	A.R. grade
anhydrous ether	A. R. grade

6. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณเอทธิลอะซีเตท

sodium hydroxide	A.R. grade
sulfuric acid	A.R. grade

7. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณอะเซทาลดีไฮด์

borax	A.R. grade
starch soluble	A.R. grade
iodine	A.R. grade
potassium metabisulfite	A.R. grade
trisodium phosphate	A.R. grade
disodium ethylenediamine tetraacetate	A.R. grade
hydrochloric acid	A.R. grade
boric acid	A.R. grade
sodium hydroxide	A.R. grade

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

8. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณฟีนอล

Folin-Ciocalteu reagent	A.R. grade
sodium carbonate	A.R. grade
gallic acid	A.R. grade

เชื้อยีสต์

เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในลักษณะผง (active dry yeast) ของ Universal Foods Corporation Milwaukee, Wisconsin 5320 USA จำนวน 2 สายพันธุ์คือ Burgundy และ Montrachet ได้รับความกรุณาจากอาจารย์ประดิษฐ์ ครุวัฒนา สถาบันอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เชื้อยีสต์ผงสำเร็จรูปนำมาทำให้กระจายตัวในน้ำเกลือ 0.8% แล้วทำ spread plate เพื่อทดสอบการปนเปื้อน เลือกโคโลนีที่ดีเก็บบน YM slant เป็น stock culture เก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส การหมักแต่ละครั้งจะต่อเชื้อจาก stock culture นำมา activate เพื่อกระตุ้นการทำงานของเชื้อยีสต์ โดยนำเชื้อยีสต์ที่อยู่ใน YM slant มา 1 loop ใส่ในอาหาร YM broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำไปเตรียมเป็นกล้าเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. yeast malt agar	Difco
2. yeast malt broth	Difco

อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมและวิเคราะห์คุณภาพไวน์หมัก

1. pH meter (Schott, CG 840)
2. hand refractometer 0-32 °Brix
3. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Sanyo Labo Autoclave MLS-2400)
4. เครื่องชั่งละเอียด (Sartorius,A 200 S)
5. เครื่องชั่งหยาบ (Sartorious,B 310 S)
6. ชุดเครื่องกลั่น
7. Ebulliometer (Dujardin-Salleron)
8. เครื่องวัดสี (Minolta CR-300 series Chroma Meters)
9. เครื่องเขย่า (New Brunswick Scientific G-33)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

10. เครื่อง spectophotometer (Spectronic 601 LR45227)

11. เครื่องระเหยชนิดสุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) (EYELA NE-15)

12. ตู้ถ่ายเชื้อ (ISSCO Laminar Flow Model BVT-123)

13. เครื่องอ่านจำนวนโคโลนี (Colony Counter Gallenkamp CNW-325)

14. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย

1. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตไวน์หม่อน

ผลหม่อนที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นพันธุ์บุรีรัมย์ 60 ผลหม่อนมีอายุความอ่อนแก่ 4 ระยะด้วยกันคือ ผลสีเขียว ผลสีชมพู ผลสีแดง และผลสีม่วง การทำไวน์หม่อนจะใช้ผลหม่อนที่มีความอ่อนแก่ 2 ระยะด้วยกันคือ ผลสีแดง อายุประมาณ 50 วัน และผลสีม่วง อายุประมาณ 60 วัน ดังนั้นจึงวิเคราะห์วัตถุดิบผลหม่อนคือ ผลสีแดง และผลสีม่วง โดยนำผลหม่อนมาตัดแยกส่วนก้านออกแล้วนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ

1.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลหม่อนสีแดงและสีม่วง ได้แก่

- ความชื้น ไขมัน โปรตีน เส้นใยอาหาร และเถ้า ตามวิธีของ AOAC , 1990 (ภาคผนวก ก.1-ก.5)
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (°Brix) โดยใช้ hand refractometer
- น้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธีของ Lane & Eynon (Amerine and Ough, 1974) (ภาคผนวก ก.6)
- pH โดยใช้ pH meter
- ความเป็นกรด (คิดในรูปกรดซิตริก)โดยการไตเตรทกับ NaOH 0.1 N

ทดลอง 4 ซ้ำ

1.2 วิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์ในผลหม่อนโดยวิธี HPLC

นำผลหม่อนสีแดงและสีม่วงมาแยกส่วนก้านออก นำส่วนเนื้อที่ได้มาบีบคั้นเอาเฉพาะส่วนของเหลวมาวิเคราะห์ ส่วนน้ำจากผลหม่อนที่ได้นำไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 10000 rpm. นาน 15 นาที แยกส่วนน้ำใสไปกรองผ่าน millipore ขนาด 0.45 μm ก่อนที่จะฉีดเข้า column ทำการทดลองที่ภาวะดังนี้

Column	: LiChrospher® 100 RP-8 5μm ความยาว 125x4 mm.
Mobile phase	: H_3PO_4 เข้มข้น 0.2 M.
Flow rate	: 0.8 ml/min.

Detector : UV 210 nm.

โดยส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทำการทดลอง 2 ซ้ำ(ภาคผนวก ก.7)

1.3 วิเคราะห์ชนิดของรงควัตถุในผลหม่อน

นำผลหม่อนสีม่วงมาแยกส่วนก้านออกแล้ว 10 กรัม มาสกัดด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 10 มิลลิลิตร โดยบดผลหม่อนในโกร่ง กรองแยกส่วนสารละลายมาทดลองขั้นต้นโดยหยดแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 25% ลงไป จนสารละลายมี pH เป็นกลาง ซึ่งสารละลายมีสีม่วง จากนั้นเติมแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 25% จนสารละลายมี pH เป็นด่าง ซึ่งสารละลายมีสีน้ำเงิน การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเป็นลักษณะของ แอนโธไซยานิน จึงตรวจสอบชนิดของแอนโธไซยานินในผลหม่อนโดยนำมาตรวจสอบด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบกระดาษ และวิธี HPLC

1.3.1 ตรวจสอบโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบกระดาษ (paper chromatograghy, PC) (ภาคผนวก ก.9)

1.3.1.1 การตรวจสอบชนิดแอนโธไซยานิดิน

นำผลหม่อนมาสกัดด้วย HCl 2 N โดยใส่ในหลอดทดลองแล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 40 นาที กรองส่วนเนื้อเยื่อออก ทำให้เย็น ล้างด้วย ethyl acetate 2 ครั้ง ชั้นของ ethyl acetate ทิ้งไปเอาส่วน aqueous ไว้ นำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที เพื่อเอาส่วนของ ethyl acetate ออก สารสกัดที่ได้ใส่บนกระจกนาฬิกาไประเหยบน water bath (เดือด) จนแห้ง ละลายสารสีที่สกัดได้ด้วย methanolic HCl 2-4 หยด นำไป spot บนกระดาษกรอง Whatman No.1 ด้วย capillary tube ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

ตัวทำละลายที่ใช้มี 2 ระบบ คือ

Forestal ; acetic acid : HCl : H_2O (10:3:30)

Formic ; formic acid : HCl : H_2O (5:2:3)

1.3.1.2 การตรวจสอบชนิดแอนโธไซยานิน

นำผลหม่อนมา 10 กรัม เติมเอธานอล 95% ที่มี HCl อยู่ 1% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปั่นใน blender เป็นเวลา 5 นาที กรองสารละลายที่ได้ นำส่วนของสารละลายนี้ไป spot บน

กระดาษกรอง Whatman No.1 โดยใช้ capillary tube ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

ตัวทำละลายที่ใช้มี 2 ระบบ คือ

BAW ; N-butanol:acetic acid:H_2O (4:1:5;upper layer)

BuHCl ; N-butanol:HCl 1N (1:1)

1.3.2 การตรวจสอบโดยวิธี HPLC (ภาคผนวก ก.10)

นำผลหม่อนมาสกัดสารสีโดยใช้ methanolic HCl ปั่นใน blender กรองเอาส่วนเนื้อทิ้งไป นำส่วนที่เป็นน้ำไประเหยด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporator ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ก่อนฉีดเข้าคอลัมน์กรองผ่าน millipore 0.45 μm ภาวะที่ทดลองคือ

Column : LiChrocart RP-18 10 μm

ความยาว 250 x 4.6 mm.

Mobile phase : 5% formic acid (A), methanol (B)

Elution profile : 0-2 นาที, 17% B ใน A (isocratic)

2-7 นาที, 17-23% B ใน A (linear gradient)

7-27 นาที, 23-80% B ใน A (linear gradient)

27-29 นาที , 80% B ใน A (isocratic)

Flow rate : 1.5 มิลลิลิตร ต่อ นาที

Injection volume: 5 μL

Detector : UV 280 nm.

โดยส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

2. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการหมักไวน์หม่อน

การผลิตไวน์หม่อนมีขั้นตอนการเตรียมน้ำหมัก การเตรียมกล้าเชื้อ และการหมักดังนี้ (รูปที่ 3.1)

การเตรียมน้ำหมัก : นำผลหม่อนสีแดงและสีม่วง (1 : 2) ล้างน้ำให้สะอาดใส่หม้อเติมน้ำตั้งไฟพอเดือด เคี่ยวด้วยไฟอ่อนๆ นาน 20-30 นาที แล้วกรองเมล็ดและกากออก รินน้ำกลับใส่หม้อต้มเติมน้ำตาล ปรับความหวานด้วยน้ำตาลทรายเป็น 20 °Brix (วิโรจน์ แก้วเรืองและคณะ,

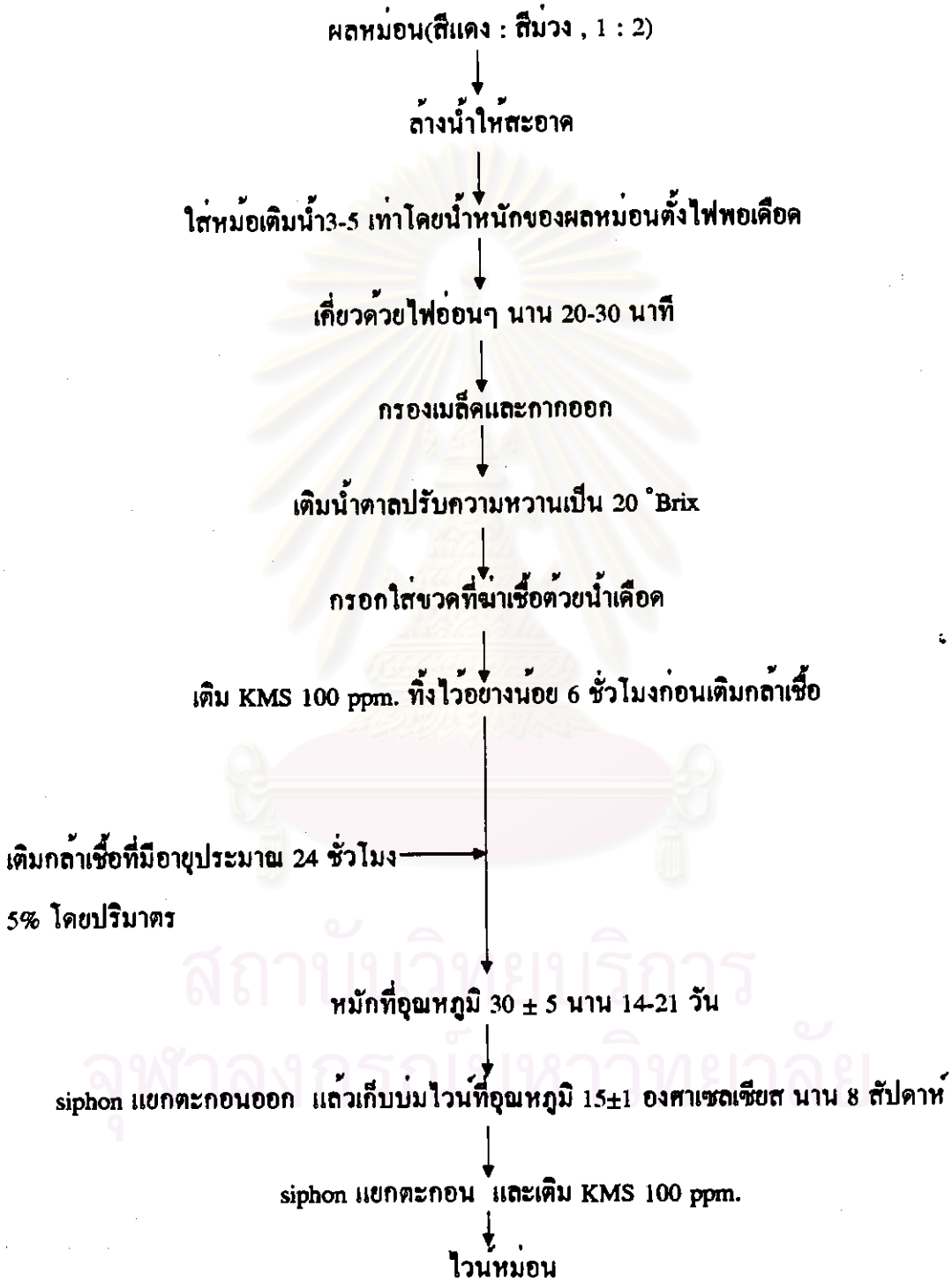
2536) ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำหมักโดยเติมสารละลายโปตัสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) 100 ppm. (free SO_2 50 ppm.) ทิ้งไว้อย่างน้อย 6 ชั่วโมง จึงเติมกล้าเชื้อ

การเตรียมกล้าเชื้อ : นำน้ำหม่อนที่ต้มและกรองกากออกแล้ว เติมน้ำตาลทรายปรับให้มีความหวาน 15 °Brix ปริมาณที่เตรียมเท่ากับร้อยละ 5 ของปริมาณน้ำหมักทั้งหมด นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เติมเชื้อยีสต์ที่นำมา activate แล้ว 10 มิลลิลิตร (จาก YM broth) ลงในน้ำหม่อนที่เตรียมเป็นกล้าเชื้อปริมาณ 115 มิลลิลิตรรวมเป็นกล้าเชื้อปริมาณ 125 มิลลิลิตร สำหรับการหมักไวน์หม่อน 2.5 ลิตร (batch size) เขย่าที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

การหมักไวน์หม่อน : นำส่วนของน้ำหม่อนที่เตรียมไว้สำหรับหมักไวน์หม่อน เติมกล้าเชื้อลงไป 125 มิลลิลิตร ต่อน้ำหมัก 2.5 ลิตร ต่อ 1 ชุดการทดลอง หมักที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส นาน 14 - 21 วัน เมื่อสิ้นสุดการหมัก siphon แยกตะกอนออก ส่วนของไวน์ที่ได้นำไปใส่ขวดแก้วใบใหม่ (ที่ฆ่าเชื้อด้วยน้ำเดือดแล้ว) ขนาด 1 ลิตร เก็บบ่มไวน์หม่อนนี้ที่อุณหภูมิ 15 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 8 สัปดาห์ จากนั้น siphon แยกตะกอนออกอีกครั้งหนึ่ง ถ่ายไวน์ที่ได้ลงในขวดใบใหม่แล้วเติม KMS 100 ppm. สิ้นสุดกระบวนการผลิตไวน์หม่อน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขั้นตอนการผลิตไวน์หม่อน



รูปที่ 8.1 ผังการผลิตไวน์หม่อน (วิโรจน์ แก้วเรือง และคณะ, 2536)

2.1 คัดเลือกปริมาณสารอาหารที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการหมักไวน์หม่อน

เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการศึกษามี 2 สายพันธุ์คือ

Saccharomyces cerevisiae var. Burgundy

Saccharomyces cerevisiae var. Montrachet

ชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่ใช้คือ ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต [diammonium hydrogen phosphate , DAP , $(NH_4)_2HPO_4$] ปริมาณที่ศึกษา 6 ระดับ คือ ร้อยละ 0 0.01 0.03 0.05 0.07 และ 0.09 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แต่ละชุดการทดลองเตรียมน้ำหม่อน 2.5 ลิตรใส่ขวดแก้วขนาด 1 แกลลอน ปิดขวดด้วยสำลี หมักที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน เก็บตัวอย่างไวน์โดยปิเปตตัวอย่างไวน์จากขวดหมักไวน์มาครั้งละ 200 มิลลิลิตร ในวันที่ 7 , 14 , และ 21 ส่วนวันที่ 3 , 11 และ 18 เก็บตัวอย่างครั้งละ 100 มิลลิลิตร วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design ทดลอง 4 ซ้ำ (Cochran and Cox, 1957)

2.1.1 การติดตามระหว่างการหมักโดย

- วัดองศาบริกซ์ที่เปลี่ยนแปลงโดยใช้ hand refractometer
- วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เปลี่ยนแปลงโดยวิธีของ Lane & Eynon (Amerine and Ough, 1974) (ภาคผนวก ก.6)
- วัดปริมาณแอลกอฮอล์ที่เปลี่ยนแปลงโดยใช้ Ebulliometer (ภาคผนวก ก.11)
- ปริมาณเชื้อยีสต์ที่เปลี่ยนแปลงโดยวิธี Total plate counts

2.1.2 เกณฑ์ที่ใช้ในการคัดเลือกปริมาณสารอาหารที่เหมาะสมในการหมักไวน์หม่อน

การหมักต้องเสร็จสิ้นในช่วงระยะเวลา 14-21 วัน เหลือน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุด และได้ร้อยละแอลกอฮอล์สูงสุด

2.2 ศึกษา pH ที่เหมาะสมสำหรับการหมักไวน์หม่อน

เตรียมการหมักไวน์เช่นเดียวกับข้อ 2.1 และก่อนการเติมกล้าเชื้อ เติมสารไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตในปริมาณที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 2.1

แปรระดับ pH ที่ศึกษา 4 ระดับคือ 3.0 3.5 4.0 และ 4.4 การปรับ pH ของน้ำหมักใช้กรดซิตริก เนื่องจากเป็นกรดที่มีปริมาณมากในผลหม่อนทั้งสีแดง

และสีม่วง เชื้อที่ใช้ศึกษาคือ *Saccharomyces cerevisiae* var. Burgundy และ *Saccharomyces cerevisiae* var. Montrachet

2.2.2 การติดตามระหว่างการหมัก

- วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เปลี่ยนแปลงโดยวิธีของ Lane & Eynon (Amerine and Ough, 1974) (ภาคผนวก ก.6)
- วัดปริมาณแอลกอฮอล์ที่เปลี่ยนแปลงโดยใช้ Ebulliometer (ภาคผนวก ก.11)
- วัดค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงโดยใช้ pH meter
- วัดปริมาณร้อยละความเป็นกรดที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมักโดยการไตเตรทด้วย NaOH 0.1 N

2.2.3 เกณฑ์ที่ใช้ในการเลือกระดับpHที่เหมาะสมในการหมักไวน์หม่อน เช่นเดียวกับข้อ 2.1.2

วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Design ขนาด 2 x 4 ทดลอง 3 ซ้ำ (Cochran and Cox, 1957)

3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของไวน์หม่อนระหว่างการหมักและการบ่ม

จากการทดลองข้อ 2 จะได้ปริมาณของสารอาหารที่เป็นแหล่งไนโตรเจน คือ ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และระดับ pH ของน้ำหมักเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการหมักไวน์หม่อน เตรียมการหมักไวน์หม่อนชุดใหม่เพื่อใช้ในการบ่ม

3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไวน์หม่อนระหว่างการหมัก คือ

- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธีของ Lane & Eynon (Amerine and Ough, 1974) (ภาคผนวก ก.6)
- ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้ Ebulliometer (ภาคผนวก ก.11)
- ค่า pH โดยใช้ pH meter
- ปริมาณร้อยละความเป็นกรดโดยใช้การไตเตรทด้วย NaOH 0.1 N

เมื่อสิ้นสุดการหมัก (21 วัน) siphon แยกตะกอนออก ส่วนไวน์หม่อนที่ได้จะถูกถ่ายใส่ขวดแก้วใบใหม่ขนาด 1 ลิตร บรรจุเต็มขวดปิดจุกด้วยฝาพลาสติกและพันเทปบริเวณรอบฝาขวดให้แน่นเพื่อกันไม่ให้อากาศเข้าไปในขวด นำไปเก็บบ่มที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ทุก 2 สัปดาห์ เก็บตัวอย่างไวน์หม่อนที่บ่มไว้โดยการ

สุ่มขวดไวน์ครั้งละ 2 ขวด มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพบางประการ ทดลอง 3 ซ้ำ

3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพบางประการระหว่างการบ่ม คือ

- ปริมาณกรดทั้งหมด(คิดในรูปกรดซิตริก) โดยวิธีกลั่น refluxและไตเตรทกับ NaOH 0.1 N (ภาคผนวก ก.12)
- ปริมาณกรดระเหย(คิดในรูปกรดอะซีติก) โดยวิธีกลั่นและไตเตรทกับ NaOH 0.1 N (ภาคผนวก ก.13)
- ปริมาณกรดไม่ระเหย โดยวิธีการคำนวณ (ภาคผนวก ก.14)
- ปริมาณกลีเซอรอล โดยวิธีระเหยและชั่งน้ำหนัก (ภาคผนวก ก.15)
- ปริมาณเอสเทอร์(คิดในรูปเอธิลอะซีเตท) โดยวิธีกลั่นและไตเตรทกับ H_2SO_4 0.1 N (ภาคผนวก ก.16)
- ปริมาณอัลดีไฮด์(คิดในรูปอะเซทาลดีไฮด์) โดยวิธีกลั่นและไตเตรทกับ $Na_2S_2O_3$ 0.05 N (ภาคผนวก ก.17)
- ปริมาณฟีนอล(คิดในรูป gallic acid) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm. (ภาคผนวก ก.18)
- วัดค่าสี L* , a* , b* โดยเครื่อง Minolta CR-300 series Chroma meters

3.3 ประเมินผลทางประสาทสัมผัสแบบ numerical scoring โดยใช้ผู้ทดสอบที่ คุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์ มีอายุอยู่ในช่วง 20-40 ปี จำนวน 10 คน (Meilgarrd, Civille and Carr, 1990) (ภาคผนวก ข)

เมื่อสิ้นสุดการบ่ม (8 สัปดาห์) ไวน์หม่อนแต่ละขวดจะถูก siphon อีกครั้ง และเติม KMS 100 ppm ทิ้งไว้อย่างน้อย 1 วัน เพื่อให้ KMS แตกตัวหมด ก่อนที่จะนำไปให้ผู้บริโภคทดสอบทางประสาทสัมผัส วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design ทดลอง 3 ซ้ำ (Cochran and Cox, 1957)