

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัดถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์

การผลิตไวน์จากซิงใช้วัดถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์ ดังต่อไปนี้

3.1.1 วัดถุดิบ

- ซิงสด จากตลาดเมืองใหม่ จ. เชียงใหม่

3.1.2 สารเคมี

- ยีสต์ผง EC-1118 บริษัท Lallemand
- ยีสต์ผง K1V-1116 บริษัท Lallemand
- โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (Potassium metabisulphate) บริษัท C.M. chemical & lab supplied
- น้ำตาลทรายขาว บริษัทมิตรผล
- วิตามินบี 1 บริษัท C.M. chemical & lab supplied
- กรดซิตริก Assay 99.0-102 % บริษัท Carlo erba
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) Assay 98.0 % บริษัท Ajax Finechen
- ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphalein) บริษัท Merch
- กลูโคส บริษัท Merch
- กรดอัลคาไลน์-3,5-ไดไนโตรซาลิซิลิก (DNS, alkaline-3,5-dinitrosalicylic acid) บริษัท Merch
- โซเดียม โพแทสเซียม ทาร์เตรต เตตระไฮเดรต (Sodium potassium tartrate tetrahydrate) บริษัท Merch
- ฟีนอล บริษัท C.M. chemical & lab supplied
- กรดซัลฟูริกเข้มข้น (95.8% w/v) บริษัท lab scan
- โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟะทาเลต (Potassium hydrogen phthalate , KHP) บริษัท Merch
- น้ำกลั่นที่ต้มจนเดือด (ปราศจากแก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์)
- น้ำกลั่น

3.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้

- เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter) รุ่น CG 840 บริษัท Schott Glaswerks
- เครื่องชั่ง รุ่น BP 3100S บริษัท Sartorius
- เครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์ (Ebulliometer) บริษัท Dujardin-slleron paris
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectronic 21) บริษัท Milton roy
- เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Hand refractometer) รุ่น Type N-1E บริษัท ATAG
- เครื่องผสมสาร (Vortex mixture) บริษัท Scientific Industries
- บิวเรต บริษัท Witeg
- ขวดรูปชมพู่ บริษัท Pyrex
- โถดูดความชื้น (decicater) บริษัท Duran
- ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 , 200 , 1000 มิลลิลิตร บริษัท Pyrex
- ปีเปต ขนาด 1 , 10 มิลลิลิตร บริษัท Witeg
- หลอดทดลอง บริษัท Pyrex
- อ่างน้ำร้อน (water bath) บริษัท Memmert
- กระจกบกดวง ขนาด 50 มิลลิลิตร บริษัท Witeg

3.2 การเตรียมน้ำขิง

นำขิงมาปอกเปลือก ล้างด้วยน้ำสะอาด หั่นขิงเป็นแผ่นบางๆ แล้วทุบให้แตก นำน้ำสะอาดใส่ในหม้อสแตนเลส ตั้งบนเตาไฟแล้วให้ความร้อนจนน้ำมีอุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส นำขิงที่เตรียมได้ใส่ในน้ำร้อน ให้อัตราส่วนน้ำต่อขิงเท่ากับ 5 ต่อ 1 กิโลกรัม คนเบาๆ เป็นระยะๆ เป็นเวลา 30 นาที กรองขิงออกด้วยผ้าขาวบาง จะได้น้ำขิงเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมักไวน์ต่อไป

3.3 การหมักไวน์ขิงด้วยยีสต์ EC-1118 โดยใช้อัตราส่วนขิงต่อน้ำที่ต่างกัน

เตรียมอัตราส่วนระหว่างน้ำขิง (จากข้อ 3.2) ต่อน้ำ ในถังหมัก ให้มีอัตราส่วนต่างๆ ดังนี้

อัตราส่วนระหว่างน้ำขิงต่อน้ำ	ปริมาณน้ำขิง (ลิตร)	ปริมาณน้ำ (ลิตร)
8 : 2	8	2
6 : 4	6	4
4 : 6	4	6

ปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในสารละลาย ให้มีค่าเท่ากับ 20 °Brix ด้วยน้ำตาลทรายขาว ตรวจวัดโดยใช้เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Hand refractometer , ในภาคผนวก ข้อ 8) และปรับค่าความเป็นกรดของสารละลายด้วยเครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter , ในภาคผนวก ข้อ 10) ให้มีค่าเท่ากับ 3 โดยใช้กรดซิตริก เติมสารละลายโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 50 ppm (วิธีการเตรียมอยู่ในภาคผนวก ข้อ 1) เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและราในสารละลาย สารละลายนี้เรียกว่า "น้ำหมัก" เก็บน้ำหมักที่เตรียมได้ไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

โปรยยีสต์ผง EC-1118 ปริมาณ 5 กรัม ลงบนผิวของน้ำหมักและวิตามินบี 1 ปริมาณ 0.4 กรัม เพื่อเป็นอาหารเสริมของยีสต์ คนสารละลาย 1 รอบ ปิดฝาครอบดังอย่างหลวมๆ แล้วเก็บสารละลายไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส การหมักแอลกอฮอล์จะเริ่มภายใน 24-48 ชั่วโมง

3.4 การหมักไวน์ขิงด้วยยีสต์ K1V- 1116 โดยใช้อัตราส่วนขิงต่อน้ำที่ต่างกัน

วิธีการเตรียมน้ำหมักจะเหมือนกับหัวข้อ 3.3 แต่ใช้ยีสต์ K1V-1116 แทนยีสต์ EC-1118

3.5 การวิเคราะห์ทางเคมีของไวน์ขิงที่ได้จากการหมักโดยใช้อัตราส่วนขิงต่อน้ำที่ต่างกัน

นำน้ำหมักที่ได้มาวิเคราะห์ทางเคมี ได้แก่

- วิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ด้วยเครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด
- วิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ ด้วยเครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์ (Ebulliometer , ในภาคผนวก ข้อ 9)
- วิเคราะห์ความเป็นกรด-เบส ด้วยเครื่องวัดพีเอช

ทำการวิเคราะห์น้ำหมักโดยการสุ่มตัวอย่างไวน์ ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยและสิ้นสุดระยะเวลาการวิเคราะห์เมื่อหมักครบ 28 วัน

3.6 การวิเคราะห์ทางคุณภาพด้านประสาทสัมผัส (sensory evaluation) ของไวน์ซิงที่ได้จากการหมักโดยใช้อัตราส่วนซิงต่อน้ำตาลที่ต่างกัน

การวิเคราะห์ทางคุณภาพด้านประสาทสัมผัส โดยผู้ทดสอบมี 25 คน ตามใบประเมินแบบทดสอบทางประสาทสัมผัส แบบ 9 point hedonic scale (ในภาคผนวก ข้อ 12)

เมื่อทำการหมักไวน์ครบ 28 วัน นำไวน์ที่ได้จากการหมักมาทำพลาสเจอร์ไรซ์ โดยนำไปต้มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เพื่อฆ่าเชื้อยีสต์และแบคทีเรีย เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องทันที แล้วนำไวน์ไปแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส ก่อนจะนำไปทดสอบให้น้ำไวน์ออกจากตู้เย็น แบ่งใส่แก้ว แก้วละ 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปให้ผู้ทดสอบชิม

3.7 การหมักไวน์ซิงด้วยยีสต์ EC-1118 โดยปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดตอนเริ่มต้นต่างกัน

เตรียมอัตราส่วนระหว่างน้ำซิงต่อน้ำตาลที่เหมาะสมในการหมักไวน์ซิง (จากการวิเคราะห์ในหัวข้อ 3.5-3.6) เตรียมในถังหมัก ปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในสารละลาย ให้มีค่าเท่ากับ 20, 22 และ 24 °Brix ด้วยน้ำตาลทรายขาว ตรวจสอบด้วยเครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

ปรับค่าความเป็นกรดของสารละลายให้มีค่าเท่ากับ 3 โดยใช้กรดซิตริก ตรวจสอบด้วยเครื่องวัดค่าพีเอช เติมสารละลายโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ 50 ppm เก็บน้ำหมักที่เตรียมไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

โปรยยีสต์ยีสต์ EC-1118 ปริมาณ 5 กรัม และวิตามินบี 1 ปริมาณ 0.4 กรัม ลงบนผิวของน้ำหมักคนสารละลาย 1 รอบ ปิดฝาครอบอย่างหลวมๆ แล้วเก็บสารละลายไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส การหมักแอลกอฮอล์จะเริ่มภายใน 24-48 ชั่วโมง

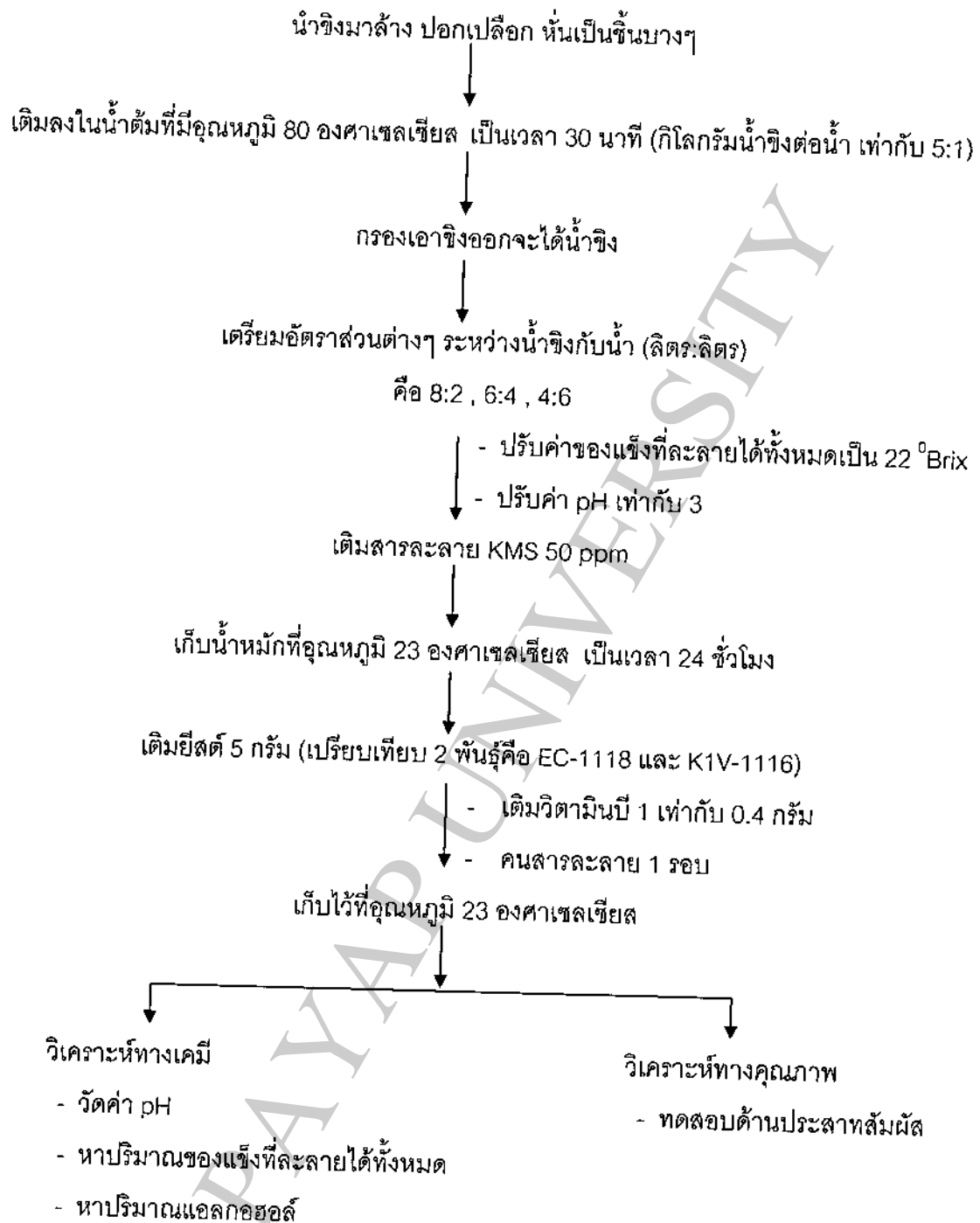
3.8 การหมักไวน์ซิงด้วยยีสต์ K1V-1116 โดยปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดตอนเริ่มต้นต่างกัน

วิธีการเตรียมน้ำหมักจะเหมือนกับหัวข้อ 3.7 แต่ใช้ยีสต์ K1V-1116 แทนยีสต์ EC-1118

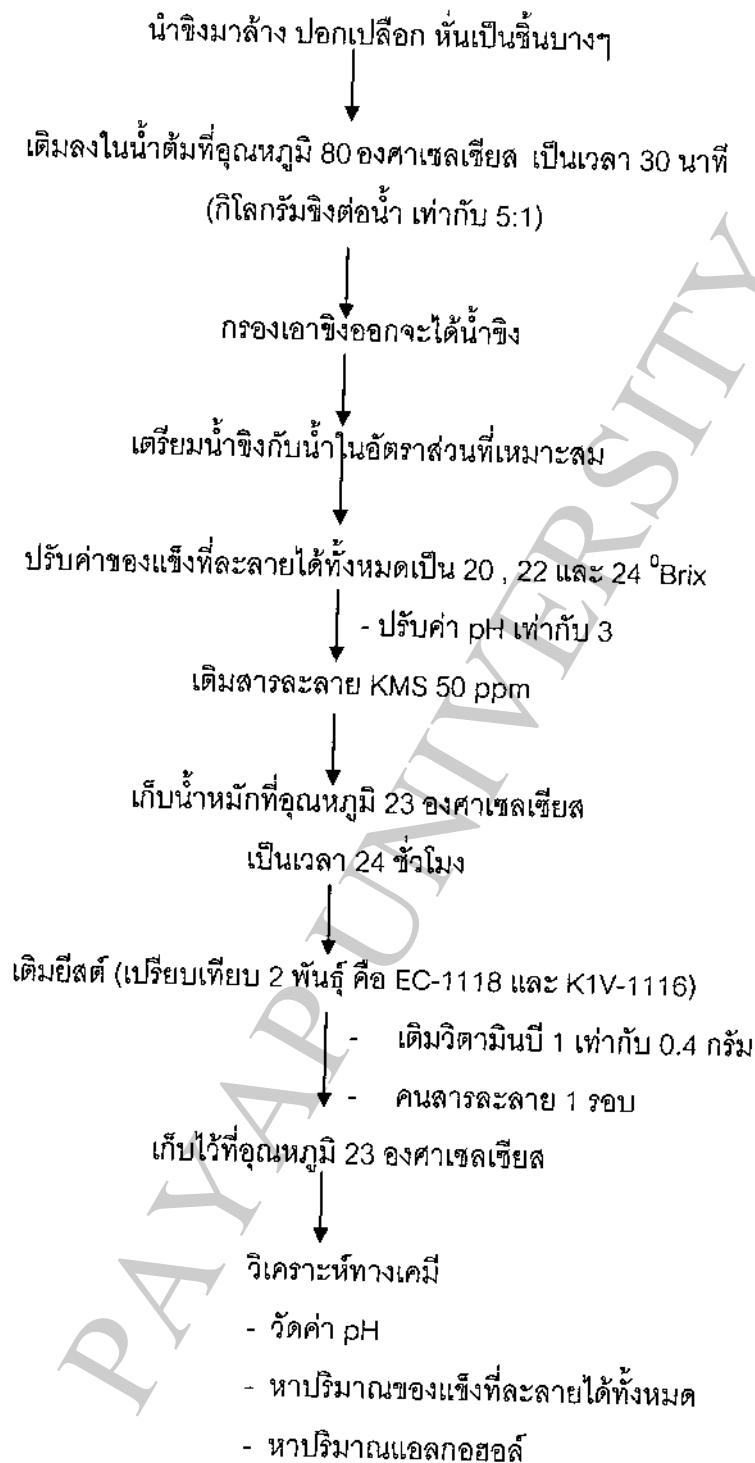
3.9 การวิเคราะห์ทางเคมีของไวน์ซิงที่ได้จากการหมักโดยปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดตอนเริ่มต้นต่างกัน

นำน้ำหมักที่ได้มาวิเคราะห์ทางเคมี ได้แก่ วิเคราะห์ความเป็นกรด-เบส วิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ เหมือนในหัวข้อ 3.5

สรุปการศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างน้ำซิงกับน้ำในการหมักไวน์ซิง ที่มีต่อคุณภาพด้านรสและกลิ่น ได้ดังภาพที่ 3 และ สรุปการศึกษาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดที่มีต่อปริมาณแอลกอฮอล์ในการหมักไวน์ซิง ได้ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 3 แผนภาพวิธีการศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างขิงกับน้ำในการหมักไวน์ขิง



ภาพที่ 4 แผนภาพวิธีการศึกษาหาปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ทั้งหมดต่อปริมาณแอลกอฮอล์ในการหมักไวน์ขิง

3.10 การวิเคราะห์ไวน์ซึ่งที่ได้จากการหมักโดยใช้กระบวนการที่เหมาะสม

นำไวน์ซึ่งที่ได้จากการหมักโดยใช้ยีสต์ที่เหมาะสม คือ K1V-1116 และใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำซึ่งต่อน้ำที่เหมาะสม คือ 6:4 (จากหัวข้อที่ 3.3-3.6) และปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 20 และ 22 °Brix (จากหัวข้อที่ 3.7-3.9) ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์สูง นำมาวิเคราะห์ดังนี้

- วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS method
- วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ด้วยวิธี Phenol-sulfuric acid
- วิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด

วิธีวิเคราะห์ ทำได้ดังนี้

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS method

ก. เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสเข้มข้น (stock standard solution)

อบกลูโคสที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นชั่งกลูโคส 10.00 กรัม ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานกลูโคสเข้มข้น 10.00 กรัมต่อลิตร หรือ 10.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ข. เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่มีความเข้มข้นต่างๆ

ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคสเข้มข้น 10.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (จากข้อ ก.) ปริมาตร 1.00 , 2.00 , 3.00 , 4.00 และ 5.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานกลูโคสที่มีความเข้มข้น 0.100 , 0.200 , 0.300 , 0.400 และ 0.500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ค. เตรียมตัวอย่างไวน์ที่เจือจาง

ปิเปตไวน์ตัวอย่าง 10.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 200.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยน้ำกลั่น

ง. เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสและสารละลายตัวอย่างไวน์เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

นำหลอดทดลองมา 6 หลอด

- | | |
|-----------|---|
| หลอดที่ 1 | ปิเปตน้ำกลั่น 1.00 มิลลิลิตร |
| หลอดที่ 2 | ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส 0.100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร |
| หลอดที่ 3 | ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส 0.200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร |
| หลอดที่ 4 | ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส 0.300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร |
| หลอดที่ 5 | ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส 0.400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร |
| หลอดที่ 6 | ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส 0.500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร |

เตรียมสารละลาย DNS (วิธีเตรียมในภาคผนวก ข้อ 2) ทุกหลอดๆ ละ 5.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรแต่ละหลอดให้เป็น 10.00 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ทำให้อ่อนในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที จะได้สารละลายมาตรฐานกลูโคสเข้มข้น 0 , 0.0100 , 0.0200 , 0.0300 , 0.0400 และ 0.0500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายทั้ง 6 หลอดเข้าเครื่องผสมสาร (Vortex mixture) ทิ้งให้เย็น แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectronic 21 (ในภาคผนวกหน้า ข้อ 11)

สำหรับสารละลายตัวอย่างไวน์ ก็ทำการทดลองเหมือนกันแต่ปิเปตตัวอย่างไวน์ 1.00 มิลลิลิตร แทนสารละลายมาตรฐานกลูโคส

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธี Phenol-sulfuric acid

ก. เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส (stock standard solution)

ชั่งกลูโคส 2.00 กรัม ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 1000.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานกลูโคส ที่มีความเข้มข้น 2.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ข. เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่มีความเข้มข้นต่างๆ

ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส เข้มข้น 2.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (จากข้อ ก) ปริมาตร 1.00 , 2.00 , 3.00 , 4.00 , 5.00 และ 7.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายมาตรฐานกลูโคสที่มีความเข้มข้น 0.0200 , 0.0400 , 0.0600 , 0.0800 , 0.100 และ 0.140 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ค. เตรียมสารละลายตัวอย่างไวน์ที่เจือจาง

ปิเปตตัวอย่างไวน์ 0.20 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยน้ำกลั่น

ง. เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสและสารละลายตัวอย่างไวน์เพื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

นำหลอดทดลองมา 7 หลอด

หลอดที่ 1 ปิเปตน้ำกลั่น 1.00 มิลลิลิตร

หลอดที่ 2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส 0.0200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร

หลอดที่ 3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส 0.0400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร

หลอดที่ 4 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส 0.0600 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร

หลอดที่ 5 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส 0.0800 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร

หลอดที่ 6 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส 0.100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร

หลอดที่ 7 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส 0.140 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร

เติมน้ำกลั่นทุกหลอดๆ ละ 1.00 มิลลิลิตร ผสมสารละลายจนเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องผสมสาร เติมสารละลายฟีนอล 5 % (วิธีเตรียมในภาคผนวก ข้อ 3) ทุกหลอดๆ ละ 1.00 มิลลิลิตร ผสมสารจนเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องผสมสาร แล้วเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นทุกหลอดๆ ละ 5.00 มิลลิลิตร ผสมสารด้วยเครื่องผสมสาร ทิ้งให้เย็น จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 0 , 0.00250 , 0.00500 , 0.00750 , 0.0100 , 0.0125 และ 0.0175 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายที่ได้มีสีเหลืองทอง

นำสารละลายทั้ง 7 หลอด ไปอุ่นในอ่างน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectronic 21 ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

สำหรับสารละลายตัวอย่างไวน์ที่เจือจาง ก็ทำการทดลองในทำนองเดียวกัน แต่ปิเปตตัวอย่างไวน์ 1.00 มิลลิลิตร แทนสารละลายมาตรฐานกลูโคส

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดในไวน์ (ในรูปกรดซิตริก) โดยวิธี Acid-base Titration

ก. เตรียมสารละลาย NaOH 0.100 โมลต่อลิตร

ปิเปตสารละลาย NaOH 50 % (w/w) (วิธีการเตรียมในภาคผนวก ข้อ 5) มา 5.30 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลาย NaOH เข้มข้น 0.100 โมลต่อลิตร

ข. การทำ Standardization สารละลาย NaOH ด้วยสาร KHP

ชั่ง KHP (วิธีเตรียมในภาคผนวก ข้อ 6) ด้วยเครื่องชั่งแบบละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ให้ได้น้ำหนักประมาณ 0.5 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (วิธีเตรียมในภาคผนวก ข้อ 7) ปริมาตร 25.00 มิลลิลิตร เขย่าจนสารละลายหมด เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 3-4 หยด (วิธีเตรียมในภาคผนวก ข้อ 6) แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลาย NaOH จนได้จุดยุติ ที่มีสีชมพูอ่อนๆ คงที่ประมาณ 15 วินาที ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

ค. ไทเทรตหาปริมาณกรดในไวน์

ปิเปตตัวอย่างไวน์ ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากแก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์ ปริมาตร 20.00 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นฟีนอล์ฟทาลีน 3-4 หยด แล้วนำไปทำการไทเทรตกับสารละลาย NaOH จนได้จุดยุติที่มีสีชมพูอ่อนๆ คงที่ประมาณ 15 วินาที