บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา มีดังนี้

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 องุ่นพันธุ์เอกซ์เซลสิออร์ และพันธุ์ 316/57 จีเอ็ม จากแปลงทดลองการศึกษาพันธุ์องุ่นที่ใช้ทำเหล้าองุ่น สถานีทดลองพืชสวนห้างฉัตร ซึ่งมีสภาพภูมิอากาศและดินเป็นดังนี้

ก. ข้อมูลอุตุนิยมวิทยาในช่วงขณะดำเนินการศึกษาทดลอง ระหว่างเดือนกันยายน 2531 ถึง ธันวาคม 2531 (ตารางที่ 1) แสดงให้เห็นถึงอุณหภูมิของอากาศสูงสุด ต่ำสุด และค่าเฉลี่ยตั้งแต่เดือนกันยายน 2531 ถึง ธันวาคม 2531 และเปอร์เซนต์ความชื้นสัมพัทธ์ ตลอดจนปริมาณน้ำฝนในช่วงระหว่างการทดลอง

ตารางที่ 1 ข้อมูลอุตุนิยมวิทยา ในช่วงขณะดำเนินการศึกษาทดลอง กันยายน 2531 - ธันวาคม 2531

เดือน	อุณหภูมิอากาศ (°C)			ความชื้นสัมพัทธ์ %	ปริมาณน้ำฝน มม
	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย		
กันยายน 2531	31.4	22.8	27.1	73	1.0
ตุลาคม 2531	32.2	21.1	26.7	65	0.1
พฤศจิกายน 2531	31.8	20.4	26.1	65	Trace
ธันวาคม 2531	28.2	11.6	19.9	61	0.0

Trace = คือฝนตกเล็กน้อยวัดจำนวนไม่ได้

ข้อมูลจากสถานีอากาศเกษตรลำปาง จังหวัดลำปาง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ข. ผลการวิเคราะห์ดินในแปลงทดลอง แปลงศึกษาพันธุ์อ้อยที่ใช้ทำเหล้าอุ่น ของสถานีทดลองพืชสวนห้างฉัตร ที่ระดับหน้าดิน 30 เซนติเมตร ดินมีสภาพความเป็นกรดเป็นด่าง 3.70 ซึ่งมีสภาพเป็นกรดมีอินทรีย์วัตถุปานกลาง 1.35 เปอร์เซนต์ ส่วนฟอสฟอรัสและโปแตสเซียมมี 100 และ 342 ส่วนต่อล้าน มีแคลเซียมและแมกนีเซียม 200 และ 8 ส่วนต่อล้าน ตามลำดับ ส่วนที่ระดับหน้าดินลึก 60 เซนติเมตร มีสภาพความเป็นกรดเป็นด่าง 3.70 ดินมีสภาพเป็นกรดเช่นเดียวกับระดับ 30 เซนติเมตร มีอินทรีย์วัตถุ 0.97 เปอร์เซนต์ ส่วนฟอสฟอรัส 81.5 โปแตสเซียม 145 แคลเซียม และแมกนีเซียม 110 และ 12 ส่วนต่อล้าน ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ข้อมูลผลการวิเคราะห์ดินในแปลงทดลอง 2 ระดับ คือ
1. ระดับลึก 30 ซม. 2. ระดับลึก 60 ซม.

Soil depth (cm)	pH	% OM	P ppm	K ppm	Ca ppm	Mg ppm
30	3.70	1.35M	100VH	342VH	200L	8L
60	3.70	0.97L	81.5VH	145H	110L	12L

OM = Organic Matter
P = Phosphorus
K = Potassium
Ca= Calcium
Mg= Magnesium
ppm= part per million

M = Medium , L = Low , H = High , VH = Very high

ข้อมูลการวิเคราะห์ ได้จากสถานีพัฒนาที่ดินลำปาง จ. ลำปาง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.1.2 กรรไกรตัดแต่งกิ่ง

3.1.3 เวอร์เนียร์ (vernier caliper)

3.1.4 แผ่นเทียบสี Nickerson color fan ของบริษัท Munsell Color Co. Inc. Maryland

3.1.5 ถังพ่นยาชนิดสะพายหลังแบบปั๊มลม

3.1.6 ตะกร้าพลาสติก

3.1.7 ขวดหมักขนาด 2.5 ลิตร แบบมี air lock

3.1.8 ถังพลาสติกชนิด high density polyethylene พร้อมฝาปิด

3.1.9 เตาแก๊ส

3.1.10 ห่วงถ่ายเชื้อ (loop)

3.1.11 ขวดบรรจุไวน์

3.1.12 กระดาษอะลูมินั่ม (aluminium foil)

3.1.13 ตู้เลี้ยงเชื้อ

3.1.14 เครื่องชั่งไฟฟ้า

3.1.15 เครื่องชั่งชนิดละเอียด

3.1.16 เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง

3.1.17 เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

3.1.18 ไฮโดรมิเตอร์ และเทอร์โมมิเตอร์

3.1.19 รีแฟรคโตมิเตอร์

3.1.20 เครื่องกรองแบบ suction pump

3.1.21 ชุดเครื่องกลั่น

3.1.22 เครื่องแก้วอื่น ๆ

บีกเกอร์

ขวดรูปชมพู่

บูเรท

ปิเปต

ขวดวัดปริมาตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หลอดหยด

อ่างเก็บน้ำควบคุมอุณหภูมิ

กรวยแก้วสำหรับกรอง

โกร่งบด

ขวด B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand)

หลอดคูเวท (cuvette)

กระบอกตวง

แท่งแก้วสำหรับคน

ช้อนตักสาร

3.1.23 วัสดุอื่น ๆ

กระดาษกรอง กระดาษชั่งสาร

ผ้าขาวบาง และทรายบริสุทธิ์ (purify sand)

ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.24 เชื้อยีสท์บริสุทธิ์ Saccharomyces cerevisiae ของภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.2 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ มีดังนี้

3.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการหาปริมาณกรด

- sodium hydroxide 0.101 N และ 0.202 N ของบริษัท Carloerba Italia
- hydrochloric acid 20 เปอร์เซนต์ ของบริษัท AJAX Chemical Sydney Australia
- potassium carbonate ของบริษัท Mallinckrodt Chemical Work St. Louis U.S.A.
- glacial acetic acid ของบริษัท Merck Germany

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการหาปริมาณวิตามินซี

- metaphosphoric acid ของบริษัท Merck Germany
- 2, 6-dichlorophenol indophenol sodium ของบริษัท Merck Germany
- sodium bicarbonate ของบริษัท Mallinckrodt Chemical Work St. Louis U.S.A.
- ascorbic acid ของบริษัท AJAX Chemical Sydney Australia

3.2.3 สารเคมีที่ใช้ในการหาปริมาณคลอโรฟิลล์

- acetone 80 เปอร์เซนต์ ของบริษัท Merck Germany

3.2.4 สารเคมีที่ใช้ในการหาปริมาณ Oxygen

- manganese sulphate 80 เปอร์เซนต์ ของบริษัท Merck Germany
- potassium hydroxide ของบริษัท Hopkin & Williams England
- potassium iodide ของบริษัท Merck Germany
- concentrated sulphuric acid ของบริษัท AJAX Chemical Sydney Australia
- sodium thiosulphate 0.1 N ของบริษัท Merck Germany
- starch ของบริษัท BHD Chemical Ltd. Poole England

3.2.5 สารเคมีที่ใช้ในการหา sulfur dioxide ในไวน์

- concentrated hydrochloric acid ของบริษัท Merck Germany
- สารละลาย iodine 0.1 N ของบริษัท Merck Germany
- สารละลาย thiosulfate 0.1 N ของบริษัท Merck Germany

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- สารละลายอิ่มตัวของ sodium bicarbonate ของบริษัท Merck Germany
- น้ำแป้ง 1 เปอร์เซนต์

3.2.6 สารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดฆ่าเชื้อ

- ethanol 95 เปอร์เซนต์
- sodium metabisulfite

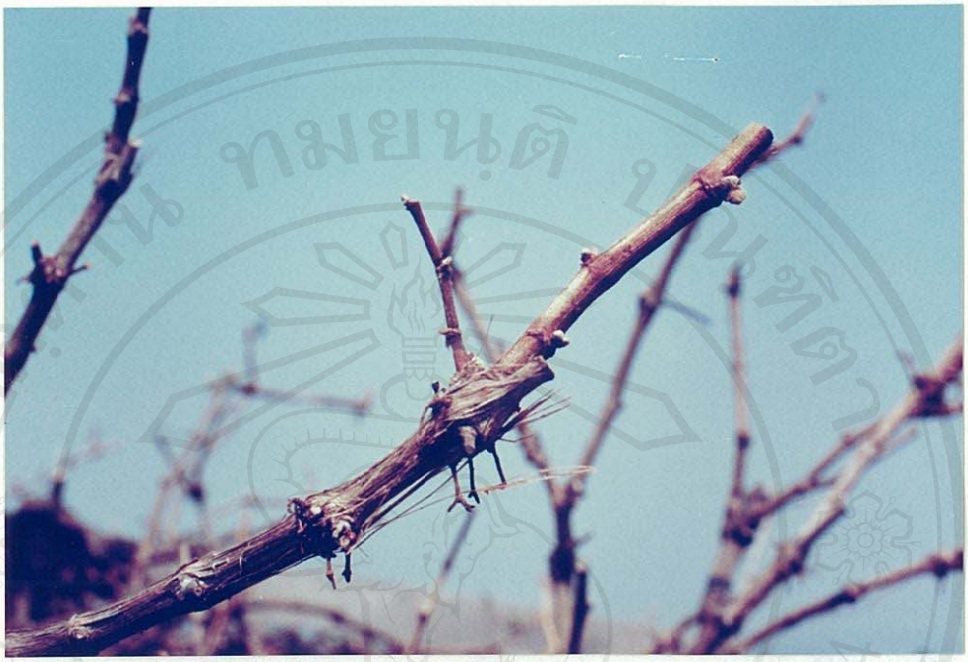
3.3 การเตรียมวัสดุทดลอง

3.3.1 การเตรียมวัสดุอุปกรณ์สำหรับการทดลองที่ 1 การศึกษาอัตราการเจริญของช่อผลและผลองุ่น พันธุ์เอกซ์เซลสิออร์ และ 316/57 จีเอ็ม

การศึกษาครั้งนี้ใช้องุ่นพันธุ์เอกซ์เซลสิออร์และพันธุ์ 316/57 จีเอ็ม จากต้นซึ่งปลูกเพื่อการศึกษาพันธุ์องุ่นที่ใช้ทำเหล้าองุ่น ที่สถานีทดลองพืชสวนห้างฉัตร จังหวัดลำปาง (ภาพที่ 1) ซึ่งเริ่มดำเนินการทดลองมาตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ.2524 จนถึงปัจจุบันนี้ กิ่งพันธุ์องุ่นที่ใช้ในการทดลองได้รับการสนับสนุนจาก บริษัทซีแกรม รวม 16 พันธุ์ ตัดแต่งกิ่งองุ่นทั้ง 2 พันธุ์ เมื่อวันที่ 7 กันยายน พ.ศ. 2531 (ภาพที่ 2) โดยตัดแต่งกิ่งแบบ short cane

ภาพที่ 1 แปลงทดลองการศึกษาพันธุ์องุ่นที่ใช้ทำเหล้าองุ่น ที่สถานีทดลองพืชสวนห้างฉัตร จังหวัดลำปาง ที่ใช้ในการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 2 การตัดแต่งกิ่งแบบ short cane pruning ให้มีตาเหลืออยู่บนตอกิ่ง 1-3 ตา

ภาพที่ 3 การแตกยอดและแทงช่อดอก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

pruning คือ ให้มีตาเหลือไว้บนตอกิ่ง (spur) 1-3 ตา หลังจากนั้นองุ่นแตกยอดใหม่ พร้อมกับแทงช่อดอก (ภาพที่ 3) เมื่อดอกองุ่นเริ่มบาน 80 เปอร์เซนต์ คัดเลือกช่อดอกที่มีขนาดใกล้เคียงกันโดยสุ่มทั่วบริเวณทรงพุ่มของต้นองุ่นและมีดอกบานวันเดียวกันไว้ต้นละ 10 ช่อ ทำเครื่องหมายช่อดอกดังกล่าวโดยใช้แผ่นป้ายชื่อพลาสติกผูกติดช่อดอกโดยการสุ่มผูก (ภาพที่ 4 และ 5) ทำจนครบจำนวน 5 ต้น ๆ ละ 10 ช่อ รวมทำพันธุ์ละ 50 ช่อ ทำกับองุ่นทั้ง 2 พันธุ์

3.3.2 การเตรียมวัสดุทดลองสำหรับงานทดลองที่ 2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับของของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณกรดรวม (กรดทาร์ทาริค) ปริมาณวิตามินซี และปริมาณคลอโรฟิลล์ ในผลองุ่นที่มีอายุการเก็บเกี่ยวต่าง ๆ กัน

ใช้องุ่นพันธุ์เอกซ์เซลสิออร์ และ 316/57 จีเอ็ม โดยทำเครื่องหมายช่อดอกองุ่นที่มีดอกบาน วันเดียวกัน 80 เปอร์เซนต์ ใช้แผ่นป้ายชื่อพลาสติกสุ่มทำเครื่องหมายไว้ต้นละ 8 ช่อให้ทั่วต้น ทำพันธุ์ละ 5 ต้น รวมทำ 40 ช่อ ในแต่ละพันธุ์ (ภาพที่ 5) เมื่อผลองุ่นทั้ง 2 พันธุ์ อายุได้ 30 วันหลังดอกบาน (ภาพที่ 8) จึงนำผลองุ่นมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

3.3.3 การเตรียมวัสดุทดลองสำหรับงานทดลองที่ 3 การศึกษาคุณภาพของไวน์จากผลองุ่นในช่วงเก็บเกี่ยวอายุต่าง ๆ กัน

ใช้องุ่นพันธุ์เอกซ์เซลสิออร์ และพันธุ์ 316/57 จีเอ็ม จำนวนพันธุ์ละ 5 ต้น ใช้ป้ายชื่อพลาสติกทำเครื่องหมายช่อดอกองุ่นที่มีดอกบานวันเดียวกัน 80 เปอร์เซนต์ (ภาพที่ 5) โดยผูกช่อดอกทั่วทั้งต้น ทำเหมือนกันทั้ง 2 พันธุ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 4 ช่อดอกองุ่นเริ่มบาน 80 เปอร์เซนต์ พันธุ์เอกซ์เซลสิออร์ และพันธุ์ 316/57 จีเอ็ม

ภาพที่ 5 การทำเครื่องหมาย โดยผูกป้ายชื่อพลาสติกกับช่อดอกที่สุ่มไว้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4. การเตรียมสารเคมี

3.4.1 การเตรียมสารละลาย sodium hydroxide 0.1 N

ชั่ง sodium hydroxide 4.0 กรัม นำมาละลายน้ำกลั่น และปรับปริมาตรจนครบ 1000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร โดยหลังจากเตรียมแล้วนำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอนของ NaOH ด้วยการไตเตรทกับ potassium acid phthalate ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน (เนาวรัตน์ 2527)

3.4.2 การเตรียมสารละลาย sodium hydroxide 0.2 N

ชั่ง sodium hydroxide 8 กรัม นำมาละลายน้ำกลั่น และปรับปริมาตรจนครบ 1000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร ก่อนใช้นำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอนของ NaOH 0.2 N ด้วยการไตเตรทกับ potassium acid phthalate ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน (เนาวรัตน์ 2527)

3.4.3 การเตรียมสารละลาย potassium carbonate

ชั่ง potassium carbonate 66 กรัม นำมาละลายน้ำกลั่น และปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

3.4.4 การเตรียมสารละลาย metaphosphoric acid

ชั่ง metaphosphoric acid 15 กรัม นำมาละลายด้วย glacial acetic acid 40 มิลลิลิตร ใช้ขาดปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 500 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4.5 การเตรียมสารละลาย standard dichlorophenol indophenol

ชั่ง 2, 6-dichlorophenol indophenol sodium 50 มิลลิกรัม เติม sodium bicarbonate 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อสีของ 2,6-dichlorophenol indophenol sodium ละลายหมดแล้ว ปรับปริมาตรโดยใช้น้ำกลั่นให้ครบ 200 มิลลิลิตร กรองสารละลายผ่านกระดาษกรอง เก็บไว้ในขวดที่มีจุกทำด้วยแก้วแล้วเก็บไว้ในตู้เย็น

3.4.6 การเตรียมสารละลาย ascorbic acid

ชั่ง ascorbic acid 100 มิลลิกรัม นำไปละลายโดยใช้สารละลาย extracting คือ metaphosphoric acid 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

3.4.7 การเตรียม acetone 80 เปอร์เซนต์

ใช้ acetone 800 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นโดยใช้ขวดปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร

3.4.8 การเตรียมสารละลาย manganese sulphate 48 เปอร์เซนต์

ชั่ง manganese sulphate 48.48 กรัม ละลายน้ำกลั่น และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

3.4.9 การเตรียม sodium thiosulphate 0.1 N

ชั่ง sodium thiosulphate 12.412 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

3.4.10 การเตรียมน้ำแป้ง

ชั่งผงแป้ง 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นเล็กน้อย กวนให้ข้นพอดีเทลงในน้ำเดือดพร้อมทั้งคนตลอดเวลา ต้มสารละลายนาน 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4.11 การเตรียมสารละลายอิ่มตัว sodium bicarbonate

ใช้ sodium bicarbonate ละลายในน้ำกลั่นใช้แท่งแก้วคน เติมสารจนกระทั่ง sodium bicarbonate ไม่ละลายต่อไป

3.4.12 การเตรียมสารละลาย iodine 0.1 N

ชั่ง iodine 12.70 กรัม และ potassium iodide 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

3.4.13 การเตรียมสารละลาย alkaline potassium iodide

ใช้ potassium hydroxide 70 กรัม ละลายในน้ำกลั่น รวมกับ potassium iodide 15 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

3.4.14 การเตรียมน้ำเชื่อม 60 เปอร์เซนต์

ใช้น้ำสะอาดต้มไฟให้เดือด เติมน้ำตาลทรายขาวลงไปคนให้ละลาย ใช้รีแฟรคโตมิเตอร์ วัดให้มีปริมาณของแข็งที่สามารถละลายน้ำได้ 60 เปอร์เซนต์

3.4.15 การเตรียมเชื้อยีสท์ตั้งต้น (Starter)

ทำความสะอาดห่วงถ่ายเชื้อโดยวิธีอะเซปติค แล้ว ใช้ห่วงถ่ายเชื้อเขี่ยเชื้อยีสท์จากหลอดเลี้ยงเชื้อยีสท์ ถ่ายเชื้อยีสท์ปริมาณเท่า ๆ กัน 1 ห่วงถ่ายเชื้อ ลงในน้ำองุ่นซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อโดยต้มเดือดและทิ้งไว้ให้เย็นในขวดรูปชมพู่ ขวดละ 100 มิลลิลิตร ใช้สำลีหุ้มด้วยกระดาษอลูมินั่มหุ้มไว้เขย่าให้ทั่วขวด นำขวดที่ถ่ายเชื้อยีสท์แล้วนี้ไปเก็บไว้ในตู้เพาะเลี้ยงเชื้ออุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (นิรุจน์ 2527)

3.4.16 การเตรียมน้ำคั้นองุ่นสำหรับทำไวน์

นำผลองุ่นมาล้างน้ำให้สะอาด เด็ดผลองุ่นออกจากช่อผลโดยคัดเลือกเฉพาะผลที่ดีเท่านั้น ใช้ที่คั้นน้ำผลไม้บีบองุ่นทุก ๆ ผล จนได้น้ำคั้นองุ่นปนกับกากและเมล็ด ใช้ผ้าขาวบางกรองกากและเมล็ดทิ้งไป ใช้แต่น้ำคั้นองุ่นเท่านั้น เก็บน้ำคั้นไว้ในถังพลาสติกชนิด high density polyethylene ที่มีฝาปิดสนิท (Weaver, 1976) ใช้ sodium metabisulfite 150 ส่วนต่อล้าน ใส่ลงไปในถังหมักทุก ๆ ถัง เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำคั้นตั้งทิ้งไว้ 1 คืนก่อนใส่เชื้อยีสท์ตั้งต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.5 วิธีการศึกษา

ทำการศึกษา โดยแยกเป็น 3 งานทดลอง

3.5.1 การศึกษาอัตราการเจริญของช่อผลองุ่นพันธุ์เอกซ์เซลสิออร์ และพันธุ์ 316/57 จีเอ็ม วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) ทำ5 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น ๆ ละ 10 ช่อ รวมทำ 14 ครั้ง เริ่มวัดผลและช่อผลองุ่นพันธุ์เอกซ์เซลสิออร์ครั้งแรกเมื่อวันที่ 9 ตุลาคม 2531 และพันธุ์ 316/57 จีเอ็ม ครั้งแรกเมื่อวันที่ 11 ตุลาคม 2531 แยกการศึกษาออกเป็น ดังนี้

ก. วัดความกว้างและความยาวของผลองุ่น โดยใช้ vernier caliper สุ่มวัดผลองุ่นในช่อที่ทำเครื่องหมายไว้ทั้งความกว้างและยาวของผลองุ่นเป็นเซนติเมตร ทำการวัดเมื่อผลองุ่นเริ่มติดผลแล้ว 1 วัน (ภาพที่ 6) และวัดในลักษณะเดียวกันทุก ๆ ระยะ 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 และ 91 วัน ตามลำดับ

ข. วัดความกว้างและความยาวของช่อผลองุ่น โดยใช้ vernier caliper วัดความกว้างและความยาวช่อผลองุ่นในระยะ 1 วัน หลังจากองุ่นติดผลแล้ว และวัดในลักษณะเดียวกันทุก ๆ ระยะ 7 14 21 28 35 42 49 56 63 70 77 84 และ 91 วันหลังดอกบาน ตามลำดับ ทำการวัดทั้ง 2 พันธุ์ ๆ ละ 5 ต้น ๆ ละ 10 ช่อ รวมพันธุ์ละ 50 ช่อ

3.5.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณการรวมในรูปกรดทาร์ทาริค ปริมาณวิตามินซีและปริมาณคลอโรฟิลล์ ในผลองุ่นที่มีอายุการเก็บเกี่ยวต่าง ๆ กัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดทำ 5 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น รวม 8 กรรมวิธี เก็บผลองุ่นพันธุ์เอกซ์เซลสิออร์ และพันธุ์ 316/57 จีเอ็ม มาวิเคราะห์ครั้งแรกเมื่อวันที่ 8 พฤศจิกายน 2531 และ 10 พฤศจิกายน 2531 ตามลำดับ โดยเริ่มเก็บผลองุ่นแต่ละพันธุ์มาวิเคราะห์เมื่อผลมีอายุได้ 30 วัน (ภาพที่ 10) และวิเคราะห์ครั้งต่อไปเมื่อผลองุ่นทั้ง 2 พันธุ์มีอายุได้ 37 44 51 58 65 72 และ 79 วัน (ภาพที่ 11 12 13 14 15 16 และ 17) แยกเป็นการศึกษาเป็นดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 6 ผลองุ่นพันธุ์เอกซ์เซลสิออร์ และพันธุ์ 316/57 จีเอ็ม อายุได้ 1 วัน

ก. การเปลี่ยนแปลงระดับของแข็งที่ละลายน้ำได้ ทำโดยใช้หลอดหยดดูดน้ำองุ่นที่ได้จากการคั้นผลองุ่นทุกผลในช่อรวมกัน นำน้ำองุ่นหยดลงบนแผ่นปริซึมของเครื่องรีแฟรคโตมิเตอร์ อ่านค่าการหักเหของแสงเป็นเปอร์เซนต์หรือองศาบริกซ์ วัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ครั้งแรกเมื่อผลองุ่นมีอายุได้ 30 วัน และวัดครั้งต่อไปเมื่อผลองุ่นมีอายุได้ 37 44 51 58 65 72 และ 79 วัน ตามลำดับ

ข. การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดรวมในรูปของกรดทาร์ทาริค ตามวิธีการของ Joy and Barnard (1963) คั้นน้ำจากผลองุ่นหนัก 12 กรัม บรรจุน้ำองุ่นในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมกรด hydrochloric 20 เปอร์เซนต์ จำนวน 18 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนนาน 10 นาที ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 200 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร กรองสารละลายผ่านกระดาษกรองใส่บีกเกอร์ นำสารละลายที่กรองแล้วนี้มา 100 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลาย potassium carbonate 10 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลงไปในสารละลายในบีกเกอร์ใช้ watch glass ปิดบีกเกอร์และนำไปตั้งบนไฟอ่อน ๆ นาน 20 นาที แล้วเทสารละลายลงในขวดปรับปริมาตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 200 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง นำสารละลายที่กรองได้มา 100 มิลลิลิตร เติม glacial acetic acid 3.5 มิลลิลิตร อย่างช้า ๆ ใช้แท่งแก้วคนนาน 5 นาที หรือมากกว่านั้น ทิ้งไว้นาน 20 นาที เติม ethanol 95 เปอร์เซนต์ลงไป 100 มิลลิลิตร คนนาน 5 นาที หรือมากกว่านั้น จนกว่าจะตกตะกอน กรองสารละลายผ่านกรวยแก้วสำหรับกรอง โดยใช้ปั๊มลมช่วย ล้างตะกอนบนกระดาษกรองด้วย ethanol 95 เปอร์เซนต์ 30 มิลลิลิตร เพื่อให้กรดหมดไป นำตะกอนลงบรรจุในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำร้อน 200 มิลลิลิตร นำไปไตเตรทกับ NaOH 0.202 N ขณะที่สารละลายยังร้อนอยู่ใช้ phenolphthalein เป็นอินดิเคเตอร์ กรดรวมในรูปของกรดทาร์ทาริค โดยคำนวณ ได้จากสูตร

$$\text{total acids} = \frac{(\text{ml. of NaOH}) \times (\text{normality of NaOH}) \times (0.7504) \times 4 \times 100}{\text{original sample weight in g.}}$$

ค. การหาอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อกรด

การหาอัตราส่วนระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และกรดหาได้จากสูตร

$$\text{total soluble solids - total acids ratio} = \frac{\text{total soluble solids}}{\text{total acids}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ง. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซี ตามวิธีของ Kuzel and Jakovljevic (1963) โดยใช้ปิเปตดูดน้ำองุ่นมา 2 มิลลิลิตร บรรจุลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร นำไปไตเตรทกับ standard dichlorophenol indophenol solution จนถึงจุดอิ่มตัว ปริมาตรของ standard dichlorophenol indophenol solution วัดปริมาตรเป็นมิลลิลิตร (y) ขณะเดียวกันใช้สารละลาย ascorbic acid 2 มิลลิลิตร นำไป

ไตเตรทกับ standard dichlorophenol indophenol solution ปริมาตรของ standard dichlorophenol solution วัดเป็นมิลลิลิตร (x)

การคำนวณหาปริมาณวิตามินซี คำนวณได้ดังนี้

สารละลาย standard indophenol จำนวน x มิลลิลิตร ทำปฏิกริยาพอดีกับ ascorbic acid 1 มิลลิกรัม

ดังนั้นสารละลาย standard dichlorophenol indophenol solution จำนวน 1 มิลลิลิตร ทำปฏิกริยาพอดีกับ ascorbic acid = 1/x มิลลิกรัม

สารละลาย standard dichlorophenol indophenol solution จำนวน y มิลลิลิตร ทำปฏิกริยาพอดีกับ ascorbic acid	= y/x	มิลลิกรัม
น้ำองุ่น 1 มิลลิลิตร มี ascorbic acid	= y/x	มิลลิกรัม
" 100 " "	= (y/x).100	มิลลิกรัม
วิตามินซีของน้ำองุ่น 100 มิลลิลิตร	= (y/x).100	มิลลิกรัม

จ. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคลอโรฟิลล์ ตามวิธีของ Witham et al (1971) โดยใช้มีดคม ๆ เฉือนเปลือกองุ่นและชั่งมา 1 กรัม หั่นให้ละเอียดแล้วนำไปบดด้วยโกร่งบดตัวอย่างพืชโดยใช้ทรายบริสุทธิ์ช่วยการบด ขณะที่บดเติม acetone 80 เปอร์เซนต์ ลงไปด้วยเมื่อบดละเอียดดีแล้วนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ใช้ acetone ทั้งหมด 20 มิลลิลิตร นำสารละลายที่กรองแล้วบรรจุในหลอดคูเวท และนำไปส่องหาค่าดูดกลืนแสง (optical density; OD) ที่ขนาดคลื่น 645 และ 663 nanometer จากสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่า OD ที่ได้ไปใช้ในการหาปริมาณคลอโรฟิลล์ได้ตามสูตรต่อไปนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\text{chlorophyll a/g tissue} = 12.7\,(D663) - 2.69\,(D645) \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{chlorophyll b/g tissue} = 22.9\,(D645) - 4.68\,(D663) \times \frac{V}{1000 \times W}$$

V = ปริมาณของอาซีโตนที่ใช้สกัดคลอโรฟิลล์

W = น้ำหนักของเปลือกองุ่นที่นำมาสกัดคลอโรฟิลล์

D = ค่าดูดกลืนแสง ที่วัดได้ในแต่ละความยาวช่วงคลื่น

3.5.3 ศึกษาคุณภาพของไวน์จากผลองุ่นในช่วงเก็บเกี่ยวอายุต่าง ๆ กัน วางแผนการทดลองแบบ Split plot ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น รวมทำ 5 กรรมวิธี ทำกับองุ่นพันธุ์เอกซ์เซลสิออร์ และพันธุ์ 316/57 จีเอ็ม โดยมีพันธุ์องุ่นเป็น main plots และช่วงเวลาที่เก็บเกี่ยวห่างกันทุก ๆ 7 วัน เป็น sub plots การทดลองทำโดยการเก็บช่อผลองุ่นแต่ละต้นที่ได้ทำเครื่องหมายโดยการผูกช่อไว้ด้วยป้ายพลาสติกเก็บผลองุ่นทั้ง 2 พันธุ์ มาทำไวน์ครั้งแรกเมื่อผลองุ่นอายุได้ 51 วัน (ภาพที่ 13) และทำครั้งต่อ ๆ ไปทุก 7 วัน จนผลองุ่นอายุได้ 79 วัน (ภาพที่ 17) เก็บผลองุ่นมาต้นละ 2500 กรัม/ครั้ง รวมเก็บพันธุ์ละ 5 ต้น ทำกับองุ่นทั้ง 2 พันธุ์จนครบ นำผลองุ่นที่เก็บมาล้างน้ำให้สะอาด เด็ดผลออกจากช่อผลบรรจุลงในตะกร้าพลาสติกใช้ที่คั้นน้ำผลไม้ คั้นผลองุ่น แยกน้ำองุ่นออกจากกากและเมล็ด โดยการกรองด้วยผ้าขาวบางใช้กระบอกตวงวัดปริมาตรน้ำคั้นองุ่นของแต่ละซ้ำไว้เพื่อเป็นประโยชน์ต่อไปในการเติม sodium metabisulfite และวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ประดิษฐ์และคณะ (2521) สรุปว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ที่วัดได้ ถ้าไม่ถึง 20 เปอร์เซนต์ ให้ใช้น้ำเชื่อม 60 เปอร์เซนต์เติมลงไปเล็กน้อย โดยปรับระดับให้ได้ถึง 20 เปอร์เซนต์ และวัดสภาพความเป็นกรดเป็นด่าง ถ้าไม่ถึง 3.5 ก็ปรับด้วยกรด citric จนให้ได้สภาพความเป็นกรดเป็นด่างเป็น 3.5 เพื่อให้เหมาะสมต่อการหมักไวน์

บรรจุน้ำองุ่นลงในถังพลาสติก ชนิด high density polyethylene ที่มีฝาปิดสนิท (ภาพที่ 7) (Weaver, 1976) นำ sodium metabisulfite 150 ส่วนต่อล้าน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ละลายน้ำองุ่นแต่ละถังหมัก คนให้ทั่วถึง ปิดฝาถังหมักทิ้งไว้ 1 คืน (ประดิษฐ์และคณะ 2521; Amerine et al, 1980) หลังจากนั้นนำเชื้อยีสท์ตั้งต้นมาเติมลงในถังหมัก ถังละ 1 เปอร์เซนต์ (ประดิษฐ์ และคณะ 2521; วัฒนา 2525) หลังจากเติมเชื้อยีสท์ตั้งต้นแล้วปิดฝาถังหมัก คนหรือกวนให้ทั่วถังหมัก และต้องคนทุก ๆ วัน ตลอดระยะการหมัก 7-10 วัน ในระหว่างการหมักไวน์จะสังเกตเห็นฟองเกิดขึ้นในถังหมัก (พูนสุข มปป)

หลังจากหมักไวน์ได้ 7-10 วันแล้ว ฟองที่เกิดขึ้นในถังหมักจะหมดไปแยกตะกอนจากไวน์โดยใช้สายยางดูดน้ำไวน์ส่วนใส ๆ ซึ่งลอยอยู่เหนือตะกอนในถังหมักลงบรรจุน้ำไวน์ลงขวดหมักใบใหม่ ซึ่งใช้ขวดสีชา ขนาด 2.5 ลิตร(ภาพที่ 7) ตะกอนในถังหมักเดิมทิ้งไป ปิดจุกขวดหมักซึ่งจุกนี้จะประกอบด้วย air lock การแยกตะกอนออกจากไวน์จะกระทำ 2-3 ครั้ง จนกว่าจะได้ไวน์ใสหรือให้ตะกอนหมดไป โดยการแยกตะกอนครั้งหนึ่ง ๆ จะกระทำห่างกัน 15 วัน การหมักไวน์ในขวดหมักนี้ ใช้เวลาในการหมัก 10-20 วัน (Weaver, 1976) การหมักนี้จะช่วยให้ได้ไวน์มีคุณภาพดี คือ ทำให้กลิ่นและรสดีขึ้น อาจใช้เวลาหมักระหว่าง 7-10 วัน (นิรุจน์ 2527) แต่ถ้าจะให้ได้ไวน์ที่ใส จะต้องหมักต่อไปอีก 3-6 สัปดาห์ (อรุณี 2530) เมื่อได้ไวน์ที่ใสดีแล้ว จึงบรรจุไวน์ลงในขวดซึ่งเป็นขวดสีเขียว เพื่อป้องกันการ oxidation ขวดที่จะบรรจุไวน์นี้จะต้องผ่านการฆ่าเชื้อโดยการต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที และขวดที่บรรจุไวน์นี้เป็นขวดชนิดปากแคบ การบรรจุไวน์จะบรรจุปริมาณไวน์ให้เกือบเต็มถึงปากขวด โดยให้เหลือพื้นที่ส่วนที่อยู่ใกล้กับปากขวดให้น้อยที่สุด เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ไปเป็นน้ำส้ม เนื่องจากได้รับออกซิเจนมากเกินไป (วัฒนา 2525) ปิดผนึกปากขวดให้แน่น (ภาพที่ 8) และนำขวดบรรจุไวน์นี้ไปเก็บไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ 15 °ซ เพื่อเป็นการบ่มไวน์ซึ่งใช้เวลาในการบ่มอย่างน้อย 4 เดือนหรือมากกว่านั้น (Amerine et al, 1972)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 7 ถังพลาสติก และขวดที่ใช้หมักไวน์

ภาพที่ 8 ไวน์องุ่นบรรจุในขวดปิดฝาสนิทก่อนนำไปบ่ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ก. การหาปริมาณออกซิเจนในน้ำไวน์ในถังหมัก

ใช้วิธีของ Winkler method โดยการใช้ปิเปตดูดสารละลาย manganese sulphate 48 เปอร์เซนต์ จำนวน 2 มิลลิลิตร ลงในขวด BOD ซึ่งบรรจุไวน์ที่ได้จากถังหมัก 200 มิลลิลิตร ที่ได้จากถังหมักโดยการสอดปิเปตลงไปใต้น้ำไวน์และค่อย ๆ ปล่อยสารละลายออกจากปิเปต และดึงปิเปตขึ้นหลังจากนั้นเติมสารละลาย alkaline-potassium iodide 2 มิลลิลิตร ลงไปในลักษณะเดียวกับการเติม manganese sulphate และเติมกรด sulphuric เข้มข้นจำนวน 2 มิลลิลิตร เพื่อละลายตะกอนที่เกิดขึ้น หลังจากนั้นนำไปไตเตรทกับสารละลาย sodium thiosulphate 0.1 N โดยใช้น้ำแป้ง 1 เปอร์เซนต์เป็นอินดิเคเตอร์ บันทึกปริมาตรของสารละลาย sodium thiosulphate 0.1 N ที่ใช้ และนำไปคำนวณหาค่าออกซิเจนได้ตามสูตร (Vitoon, 1973)

$$\text{ppm of } O_2 = \frac{\text{Titre value of 0.1 N } Na_2S_2O_3 \times 0.8 \times 1000}{\text{volume of the bottle}}$$

ข. การหาปริมาณ sulfur dioxide ในไวน์

ใช้วิธีของ Amerine et al (1972) โดยบรรจุไวน์ 50 มิลลิลิตร ลงไปในขวดกลั่น ซึ่งมีน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตรผสมอยู่ หลังจากนั้นเติมสารละลาย bicarbonate 10 มิลลิลิตร และเติมกรด hydrochloric เข้มข้น 5 มิลลิลิตร ลงไปผสมกันในขวดกลั่น หลังจากเติมสารละลายทุกตัวจนครบแล้วต่อขวดกลั่นนี้เข้ากับชุดเครื่องควบแน่น เปิดน้ำให้ไหลผ่านเครื่องควบแน่น และจุดไฟเผาใต้ขวดกลั่นทันที ส่วนปลายอีกด้านหนึ่งของเครื่องควบแน่น ต่อเข้ากับหลอดแก้ว ซึ่งต่อเชื่อมลงไปจุ่มอยู่ในสารละลาย iodine 25 มิลลิลิตร รวมกับน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ได้ทำเครื่องหมายตรงระดับ 200 มิลลิลิตรไว้ หลังจากกลั่นจนได้สารละลายในขวดรูปชมพู่ ครบ 200 มิลลิลิตร แล้วหยุดกลั่นและนำสารละลายที่ได้จากการกลั่นนี้ ไปไตเตรทกับสารละลาย thiosulfate 0.1 N จนกระทั่งได้สารละลายเป็นสีเหลืองจึงเติมน้ำแป้งลงไป 5 มิลลิลิตร เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ จะได้สารละลายเป็นสีน้ำเงินนำสารละลายนี้ไปไตเตรทต่อกับสารละลาย thiosulfate 0.1 N

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จนกระทั่งสารละลายไม่มีสี บันทึกปริมาตรของสารละลาย thiosulfate 0.1 N (b) ขณะเดียวกัน นำสารละลาย iodine 25 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 200 มิลลิลิตร เติมน้ำแป้ง 5 มิลลิลิตร เป็นอินดิเคเตอร์ นำไปไตเตรทกับสารละลาย thiosulfate 0.1 N บันทึกปริมาตรของสารละลาย thiosulfate (a) และนำไปคำนวณหาค่า sulfur dioxide ต่อลิตร จากสมการ คือ

$$mg\ SO_2/liter = (a - b) \times 3.2 \times 20$$

a = ปริมาตรของสารละลาย thiosulfate 0.1 N ที่ใช้ในการไตเตรทกับสารละลาย iodine

b = ปริมาตรของสารละลาย thiosulfate 0.1 N ที่ใช้ในการไตเตรทกับสารละลายที่กลั่นได้

ค. การวิเคราะห์หาค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในไวน์

ใช้ไวน์หยดลงบนแผ่นปริซึมของเครื่องรีแฟรคโตมิเตอร์ 1-2 หยด อ่านค่าการหักเหของแสงเป็นเปอร์เซนต์

ง. การหาปริมาณกรดรวม

ใช้ไวน์ 10 มิลลิลิตร ไปไตเตรทกับ NaOH 0.101 N และนำจำนวนมิลลิลิตร NaON 0.101 N ที่ใช้ไปคำนวณหาค่าปริมาณกรดรวมในรูปกรดทาร์ทาริคตามสูตร

$$\text{total acids} = \frac{V \times N \times Meq.\ Wt. \times 100}{Y}$$

V = ปริมาตรของ NaOH 0.101 N

N = ความเข้มข้นของ NaOH

Meq. Wt. = มิลลิอีควิวาเลนท์ของกรดทาร์ทาริค

Y = ปริมาตรของไวน์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ง. การหาปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์

ใช้ขวดปรับปริมาตรตวงไวน์ 100 มิลลิลิตร เทลงผสมกับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ในขวดกลั่นซึ่งต่อเชื่อมกับเครื่องควบแน่น ปลายอีกด้านหนึ่งของเครื่องควบแน่น ใช้สายยางต่อเชื่อมกับกระบอกตวง นำขวดกลั่นจุ่มลงไปในอ่างเก็บน้ำควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งปรับไว้ที่ 68 องศาเซลเซียส กลั่นไวน์จนกระทั่งได้สารละลาย 95 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นลงไปให้ครบ 100 มิลลิลิตร นำไปวัดเปอร์เซนต์แอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิ 15.5 องศาเซลเซียส โดยใช้ไฮโดรมิเตอร์ (Amerine et al, 1980)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved