

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษาถึง ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณคาเฟอีนในสาร กาแฟพันธุ์อราบิก้าที่ปลูกในจังหวัด เชียงใหม่ นั้น เพื่อให้บรรลุถึงวัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้ จึงได้แบ่งขั้นตอนการศึกษา ออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1. การศึกษาปริมาณคาเฟอีนเบื้องต้นในกาแฟ

การศึกษากาแฟปริมาณคาเฟอีนในกาแฟระดับเบื้องต้นนี้ เป็นการศึกษาถึงระดับปริมาณคาเฟอีน ที่มีอยู่ในเครื่องคั่วกาแฟชนิดผงสำเร็จรูปที่มีจำหน่ายในท้องตลาดทั่วไป และผลของการคั่วและ บดกาแฟที่มีผลต่อปริมาณคาเฟอีนในสารกาแฟ โดยแบ่งออกเป็น 2 การทดลองย่อย ดังนี้

การทดลองที่ 1.1 การวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีนในเครื่องคั่วกาแฟชนิดผงสำเร็จรูป

1. แผนการทดลอง

การศึกษากาแฟปริมาณคาเฟอีนในเครื่องคั่วกาแฟชนิดผงสำเร็จรูปในครั้งนี้ ได้วางแผนการ ทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) โดยมีกรรมวิธีในการศึกษา คือ เครื่องกาแฟผงสำเร็จรูปที่วางจำหน่ายในท้องตลาด จำนวน 6 ยี่ห้อ ได้แก่ 1) เนสกาแฟ โพรเทค ขนาด 100 กรัม 2) เนสกาแฟ เรดคัพ ขนาด 100 กรัม 3) มอคโคน่า ซีเลค ขนาด 150 กรัม 4) บัดดี้ ดีน ขนาด 150 กรัม 5) เขาช่อง ผสมชนิดเกล็ด ขนาด 150 กรัม และ 6) โคลัมเบีย ตรา ทชิโบ ขนาด 100 กรัม และทำการวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีนในตัวอย่างกาแฟ 5 ซ้ำต่อยี่ห้อ

2. การวิเคราะห์หาคาเฟอีนในตัวอย่างกาแฟสำเร็จรูป

ซึ่งตัวอย่างกาแฟจำนวน 1.25 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์ ปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระดาษฟอยล์ นำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นานประมาณ 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อกรองกากกาแฟที่มีขนาดใหญ่ออกก่อน แล้วจึงกรองสารละลายที่ได้ด้วย และ ใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 อีกครั้งเพื่อกรองกากกาแฟที่มีขนาดเล็กออก ตามลำดับ นำสารสกัดที่ได้ไปวัดหาปริมาณคาเฟอีน โดยวิธี HPLC ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข.1

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาผลของการคั่วและการบดต่อปริมาณคาเฟอีนในกาแฟอาราบิก้า

1. แผนการทดลอง

การศึกษาผลของการคั่วและการบดต่อปริมาณคาเฟอีนในกาแฟอาราบิก้า ได้วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมสุ่มสมบูรณ์ (2×3 Factorials in CRD) โดยมีปัจจัยร่วม 2 ปัจจัย และ 5 ข้ำ ดังนี้ ปัจจัยที่ 1 คือ การคั่ว มี 3 ระดับ ได้แก่ 1) คั่วอ่อน ใช้เวลาในการคั่วนาน 8 นาที 2) คั่วกลาง ใช้เวลาในการคั่วนาน 10 นาที 3) คั่วเข้ม ใช้เวลาในการคั่วนาน 12 นาที สำหรับปัจจัยที่ 2 เป็นการบดสารกาแฟหลังการคั่ว แบ่งออกเป็น 2 ระดับ คือ 1) บดหยาบและ 2) บดละเอียด

สำหรับผลกาแฟที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ ได้สุ่มเก็บตัวอย่างจากพื้นที่ปลูกกาแฟอาราบิก้า พันธุ์ LC 1662 ในสถานีวิจัยและฝึกอบรมที่สูงขุนช่างเคี่ยน ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ที่ระดับความสูง 1,000 เมตรจากน้ำทะเล (ภาพที่ 12) ในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2551 โดยสุ่มเก็บตัวอย่าง ผลกาแฟสุก ที่มีลักษณะผลสีแดงเข้ม จากต้นที่มีอายุ 4-5 ปี สภาพสมบูรณ์ แข็งแรง มีขนาดทรงพุ่มและความสูงใกล้เคียงกัน จำนวน 15 ต้น จำนวน 250 กรัมต่อต้น หลังจากนั้นนำผลการกาแฟที่เก็บได้ไปผ่านกระบวนการผลิตสารกาแฟแบบเปียก

2. การเตรียมตัวอย่างสารกาแฟเพื่อวิเคราะห์หาคาเฟอีน

2.1) การผลิตสารกาแฟแบบเปียก : นำผลกาแฟสุกที่เก็บมาจากแปลงมาล้างทำความสะอาด แล้วบีบเอาแต่ส่วนของเมล็ด มาแช่น้ำเป็นเวลา 36-48 ชั่วโมง (เพื่อกำจัดเมือกออก) หลังจากนั้นนำมาล้างทำความสะอาดอีกครั้ง แล้วนำไปตากแดดให้เมล็ดแห้ง แล้วนำมาสีแยกส่วนของกะลาออก ก็จะมีส่วนของสารกาแฟเพื่อนำไปคั่วและบดต่อไป (ภาพที่ 7)

2.2) การคั่วสารกาแฟ : ชั่งสารกาแฟ จำนวน 150 กรัม (ขึ้นอยู่กับขนาดของเครื่องคั่ว) ใส่เข้าไปในเครื่องคั่ว ทำการคั่วกาแฟโดยใช้อุณหภูมิเริ่มต้นของเครื่องคั่วที่ 180 องศาเซลเซียส คั่วตามระยะเวลาที่กำหนด เมื่อครบเวลาที่กำหนดให้นำสารกาแฟออกมาจากเครื่องคั่วและทำให้อุณหภูมิของสารกาแฟลดลงโดยเป่าด้วยลม เพื่อไม่ให้สารกาแฟไหม้เนื่องจากอุณหภูมิที่สะสมภายในสารกาแฟ

2.3) การบดตัวอย่างสารกาแฟ : นำสารกาแฟที่เย็นแล้วหลังจากผ่านการคั่วมาบดด้วยเครื่องบด โดยในการทดลองนี้ทำการบด 2 ระดับ คือ บดหยาบและบดละเอียด ดังภาพที่ 13



ภาพที่ 13 ลักษณะกาแฟคั่วหยาบและบดละเอียด

3. การวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีน : ดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของพันธุ์และช่วงฤดูการเก็บเกี่ยวผลผลิตต่อปริมาณคาเฟอีน ในกาแฟอาราบิก้า

จากการทดลองที่ 1 การวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีนในกาแฟ ซึ่งเกิดจากผลของปัจจัยหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิตหรือการแปรรูปผลผลิต หากต้องการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณคาเฟอีนอย่างครบถ้วนทั้งระบบการผลิตกาแฟ ซึ่งจากการศึกษาของ Clifford (1987) กล่าวว่า ปัจจัยขณะที่กาแฟอยู่ในแปลงปลูก ปัจจัยที่มีผลต่อการสังเคราะห์สารคาเฟอีน ได้แก่ พันธุ์ สภาพแวดล้อมของพื้นที่ปลูก และความสุกแก่ของผลกาแฟ เป็นต้น แต่เนื่องจากปัจจัยเรื่องความสุกแก่ของผลผลิตกาแฟ ซึ่งการผลิตกาแฟ โดยทั่วไปแล้วจะใช้กาแฟที่สุกแก่เต็มที่ เนื่องจากให้กลิ่นและรสชาติที่ดีกว่ากาแฟที่ยังสุกแก่ไม่เต็มที่ (Mazzafera *et al.*, 1991) จึงเหลือ 2 ปัจจัยที่มีผลต่อการสังเคราะห์สารคาเฟอีน จึงนำมาสู่การศึกษาครั้งนี้ โดยแบ่งการออกเป็น 3 การทดลองย่อยดังนี้

2.1) การศึกษาลักษณะคุณภาพ ทางด้านกายภาพของผลกาแฟอาราบิก้า 4 สายพันธุ์

2.1.1 แผนการดำเนินงาน

การศึกษาลักษณะคุณภาพและกายภาพของผลการแปรรูปอาราบิก้าในครั้งนี้ ได้ดำเนินการศึกษาในพื้นที่ปลูกกาแฟอาราบิก้า ของศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง) ตำบลแม่วิน อำเภอมะแมง จังหวัดเชียงใหม่ ที่ระดับความสูง 1,400 เมตรจากระดับน้ำทะเล (ภาพที่ 12) โดยวาง

แผนการทดลองแบบ สุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (Randomized Complete Block Design, RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ สำหรับพันธุ์กาแฟอาราบิก้าที่ใช้ในการศึกษา มีจำนวน 4 สายพันธุ์ดังนี้ 1) พันธุ์คาติมอร์ ไฮบริด 528/46 ML 2/10 2) พันธุ์คาติมอร์ ไฮบริด 420/9 ML 2/4 3) พันธุ์คาติมอร์ CIFIC 7963-13-28 และ 4) พันธุ์ทูปปี้ก้า

2.1.2 การเก็บตัวอย่างผลกาแฟ

สุ่มเก็บตัวอย่าง ผลกาแฟ จากต้นกาแฟอาราบิก้าทั้ง 4 พันธุ์ โดยเก็บตัวอย่าง ผลกาแฟสุก ที่มีลักษณะผลสีแดงเข้ม (พันธุ์ H 420/9 ML 2/4 CIFIC 7963-13-28 และTypica) และมีลักษณะผล สีเหลืองเข้ม (H 528/46 ML2/10) จากต้นกาแฟแต่ละสายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้ จำนวน 10 ต้น ซ้ำละ 2 ต้น ละ 250 กรัม ทำการสุ่มเก็บผลกาแฟ 3 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 เก็บผลกาแฟในช่วงต้นเดือนกุมภาพันธ์ ครั้งที่ 2 เก็บผลกาแฟในช่วงกลางเดือนกุมภาพันธ์ และครั้งที่ 3 เก็บผลในช่วงต้นเดือนมีนาคม นำผลกาแฟที่เก็บได้ มาผ่านกระบวนการผลิตสารกาแฟแบบเปียก เช่นเดียวกับ การทดลองที่ 1.2 ผลกาแฟที่ได้จากการสุ่มเก็บในแต่ละช่วงฤดูการเก็บเกี่ยว จะนำมาวิเคราะห์ลักษณะคุณภาพทางด้านกายภาพของ ผลกาแฟ ได้แก่ ขนาดผลสด ขนาดเมล็ดกาแฟ น้ำหนักผลสด และน้ำหนัก สารกาแฟ



ภาพที่ 14 ที่ตั้งศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง) ตำบลแม่วีน อำเภอแม่เมาะ จังหวัดเชียงใหม่ ที่ระดับความสูง 1,400 เมตรจากระดับน้ำทะเล

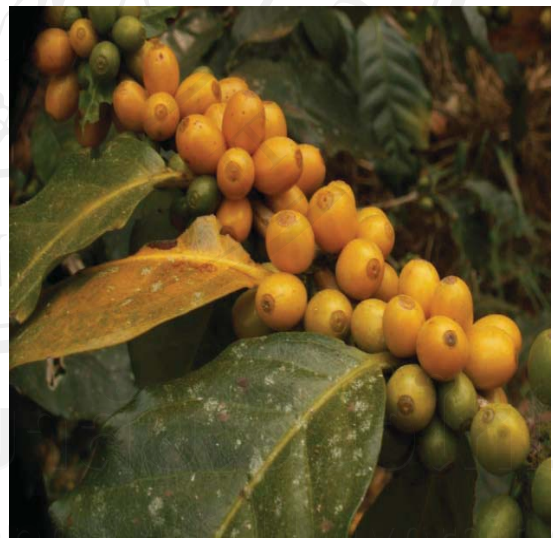
ที่มา <http://www.doiinthanon.com/blog/?id=inthanon27> (27 มกราคม 2553)



ภาพที่ 15 ลักษณะของพื้นที่ปลูกกาแฟในศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง)



(ก)



(ข)

ภาพที่ 16 ลักษณะของกาแฟอาราบิก้าสายพันธุ์คาติมอร์ ไสบริด 528/46 ML 2/10 (ก) ลักษณะทรงต้น
(ข) ลักษณะและสีผลกาแฟ



(ก)



(ข)

ภาพที่ 17 ลักษณะของกาแฟอาราบิก้าสายพันธุ์คาติมอร์ ไฮบริด 420/9 ML 2/4 (ก) ลักษณะทรงต้น
(ข) ลักษณะและสีผลกาแฟ



(ก)



(ข)

ภาพที่ 18 ลักษณะของกาแฟอาราบิก้าสายพันธุ์คาติมอร์ CIFIC 7963-13-28 (ก) ลักษณะทรงต้น
(ข) ลักษณะและสีผลกาแฟ



(ก)

(ข)

ภาพที่ 19 ลักษณะของกาแฟอราบิก้าสายพันธุ์ทูปิก้า (ก) ลักษณะทรงต้น (ข) ลักษณะและสีผล

2.2) ผลของพันธุ์และช่วงฤดูการเก็บเกี่ยวผลผลิตต่อปริมาณคาเฟอีนในกาแฟอราบิก้า

2.2.1 แผนการดำเนินงาน

การศึกษาผลของพันธุ์และช่วงฤดูการเก็บเกี่ยวต่อปริมาณคาเฟอีนในกาแฟ

ได้ดำเนินการในพื้นที่เดียวกับการทดลองที่ 2.1 โดยวางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (3×4 Factorials in RCBD) โดยมีปัจจัยร่วม 2 ปัจจัย และ 5 ซ้ำดังนี้ ปัจจัยที่ 1 เป็นสายพันธุ์กาแฟจำนวน 4 สายพันธุ์ คือ พันธุ์คาติมอร์ ไฮบริด 528/46 ML 2/10, พันธุ์คาติมอร์ ไฮบริด 420/9 ML 2/4, พันธุ์คาติมอร์ CIFIC 7963-13-28, พันธุ์ทูปิก้า (Typica) สำหรับปัจจัยร่วมที่ 2 เป็นช่วงฤดูการเก็บเกี่ยวผลผลิต มี 3 ระยะ คือ เก็บเกี่ยว ช่วงต้นฤดู ผลผลิต (ในช่วงต้นเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2552), เก็บเกี่ยวช่วงกลางฤดูผลผลิต (ในช่วงกลางเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2552) และเก็บเกี่ยวช่วงปลายฤดูผลผลิต (ในช่วงต้นเดือนมีนาคม พ.ศ. 2552)

2.2.2 การเก็บตัวอย่างผลกาแฟ

สุ่มเก็บตัวอย่างผลกาแฟและนำไปผลิตสารกาแฟแบบเปียกเช่นเดียวกับการทดลองที่

2.1 สารกาแฟที่ได้จากการสุ่มเก็บในแต่ละช่วงฤดูการเก็บเกี่ยวนำมาวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีน โดยวิธี HPLC เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2

2.3) สหสัมพันธ์ของพันธุ์ ช่วงฤดูการเก็บเกี่ยว และสภาพแวดล้อมต่อปริมาณคาเฟอีนในกาแฟอราบิก้า

การทดลองย่อยที่ 2.3 นี้ เป็นการศึกษาสหสัมพันธ์ของปัจจัยต่าง ๆ เช่น สายพันธุ์ของกาแฟ ช่วงฤดูการเก็บเกี่ยว และสภาพแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อปริมาณสารคาเฟอีนในการแปรรูปกาแฟ โดยการเก็บข้อมูล ต่าง ๆ จากแปลงทดลองที่ใช้ในการศึกษาของการทดลองย่อยที่ 2.2 สำหรับข้อมูลที่ทำให้การเก็บบันทึกมีดังนี้

2.3.1 การเก็บตัวอย่างดิน

สุ่มเก็บดิน แบบ composite sampling จากต้นกาแฟที่ได้สุ่มเลือกไว้เช่นเดียวกับการทดลองย่อยที่ 2.2 โดยจุดดินลึกประมาณ 15 เซนติเมตร ซึ่งเก็บจากทั้งหมด 4 จุด รวมกันในแต่ละตัวอย่าง ทำการเก็บทั้ง 3 ช่วงฤดู การเก็บเกี่ยวผลผลิต จากนั้น นำตัวอย่าง ดินที่เก็บมาทำให้แห้ง โดย เกลี่ยลงบนถุงพลาสติก แล้วผึ่งไว้ในที่ร่มเป็นเวลา 2-3 วัน หลังจากเมื่อตัวอย่างดินแห้งนำมาบดให้ละเอียด แล้วร่อนผ่านตะแกรง ขนาด 2 มิลลิเมตร และ 0.5 มิลลิเมตร เก็บใส่ถุงพลาสติก เพื่อนำไปวิเคราะห์ (ทศนิยม, 2542) หากคุณสมบัติของดินดังนี้ ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน (pH) โดยใช้ pH meter, ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (Walkley and Black), ปริมาณไนโตรเจน (โดยแปลงค่าจากค่าปริมาณอินทรีย์วัตถุ), ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray II), โปแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (atomic absorption spectrophotometry , AAS) (รายละเอียดการวิเคราะห์ดิน แสดงในภาคผนวกที่ ๕)

2.3.2 การเก็บตัวอย่างผลกาแฟ

สุ่มเก็บตัวอย่างผลกาแฟและนำไปผลิตสารกาแฟแบบเปียกเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1 สารกาแฟที่ได้จากการสุ่มเก็บในแต่ละช่วงฤดูการเก็บเกี่ยว จะนำมาวิเคราะห์หา ปริมาณธาตุอาหารหลักในสารกาแฟ ได้แก่ ธาตุไนโตรเจน (Kjeldahl method) ธาตุฟอสฟอรัส (colorimetric method) ธาตุโพแทสเซียม (AAS) (รายละเอียดการวิเคราะห์ธาตุอาหารในสารกาแฟ แสดงในภาคผนวกที่ ๖3) และ ปริมาณคาเฟอีนโดยวิธีHPLC เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2

2.3.3) เก็บข้อมูลเกี่ยวกับสภาพแวดล้อมของพื้นที่ปลูกกาแฟอราบิก้า โดย บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ ด้วยเทอร์โมมิเตอร์กระเปาะเปียกและกระเปาะแห้ง

2.3.4) การวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำข้อมูลจากการวิเคราะห์ดิน ปริมาณธาตุอาหารในสารกาแฟ และข้อมูลสภาพแวดล้อม มาหา ความสัมพันธ์ กับปริมาณคาเฟอีน ในสารกาแฟ โดยใช้ Multiple regression analysis

สถานที่ทดลอง

1. ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง) ตำบลแม่วีน อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่ ที่ระดับความสูง 1,400 เมตร จากน้ำระดับทะเล
2. ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาพืชสวน ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาทำการทดลอง

เวลาดำเนินงาน 1 ปี เริ่มตั้งแต่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2551 ถึง 30 กันยายน พ.ศ. 2552

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved