ระดับโครงการ

กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

รายงานผลสัมฤทธิ์สำหรับทุนสนับสนุนงานพื้นฐาน (Fundamental Fund)

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2564

หน่วยงาน กรมวิชาการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

รายงานโครงการวิจัย

โครงการวิจัยและพัฒนากระบวนการผลิตกาแฟคุณภาพ

Research and Development on Qualitative Coffee Production project

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

นายโกเมศ สัตยาวุธ

Komate SATAYAWUT

ปี 2564

บทสรุปผู้บริหาร

โครงการวิจัยและพัฒนากระบวนการผลิตกาแฟคุณภาพมุ่งเน้นการวิจัยและพัฒนากระบวนการผลิตกาแฟโดยใช้นวัตกรรมสมัยใหม่เพื่อตอบสนองนโยบายเศรษฐกิจจากรากฐานชีวภาพ (Bio-Circular Economy) มุ่งศึกษาและวิจัย 3 ส่วนได้แก่การพัฒนานวัตกรรมการหมักใหม่โดยการใช้หลักการเลียนแบบทางเดินอาหารสัตว์ (Bio-Processing Fermentation) นวัตกรรมการใช้วัสดุเหลือใช้จากการหมัก (Circular Process) และการตรวจสอบย้อนกลับจากถิ่นกำเนิดกาแฟโดยใช้หลักการของ Chemometrics ทั้งนี้ดำเนินงานวิจัยระหว่างปีงบประมาณ 2564 (ตุลาคม 2563 – กันยายน 2564) ณ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร โดยผลสัมฤทธิ์ที่สำคัญจากโครงการแบ่งเป็นองค์ความรู้ที่เกิดขึ้นใหม่ทั้งสิ้น 3 องค์ความรู้ได้แก่ (1.) การใช้ประโยชน์จากน้ำหมักกาแฟเพื่อการผลิตกาแฟอาราบิก้าคุณภาพในการจัดการผลิตแบบ Zero waste process และกระบวนการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการหมักกาแฟ (2.)การหมักเมือกกาแฟในระบบจำลองทางเดินอาหารสัตว์อย่างมีประสิทธิภาพ และ (3.) ข้อมูลความสัมพันธ์ปริมาณอัตราเฉพาะของ Cafestol และ Kahweol ในพื้นที่กาแฟอาราบิก้าภาคเหนือ ภาคตะวันออกและภาคใต้ ตลอดกระบวนการผลิตกาแฟตั้งแต่กระบวนการเก็บเกี่ยวถึงชงกาแฟ นอกจากนี้ยังมีนวัตกรรมที่เกิดขึ้นจำนวน 4 นวัตกรรมได้แก่ (1.) เทคโนโลยีการใช้น้ำหมักซ้ำและการบำบัด (2.)เทคโนโลยีการเคลือบผิวส้มโดยเพคตินจากเปลือกกาแฟ (3.) เทคโนโลยีการหมักในระบบจำลองทางเดินอาหารสัตว์อย่างมีประสิทธิภาพ และ (4.) ความสัมพันธ์ปริมาณอัตราเฉพาะของสารคาเฟสทอลและคาเวออล ตลอดกระบวนการผลิตกาแฟตั้งแต่กระบวนการเก็บเกี่ยวถึงชงกาแฟ โดยได้มีถ่ายทอดเทคโนโลยีสามารถพัฒนาเกษตรกรสู่ผู้ประกอบการขั้นต้นได้พร้อมยกระดับอุตสาหกรรมกาแฟ คุณภาพกาแฟสู่มาตรฐานสากลได้รับการยอมรับตอบโจทย์การพัฒนาการผลิตกาแฟพิเศษแบบครบวงจรภายใต้โครงการขับเคลื่อนงานวิจัยสู่การใช้ประโยชน์การผลิตกาแฟพรีเมี่ยมในปี 2564 จนถึงปัจจุบัน

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

การผลิตกาแฟคุณภาพจำเป็นต้องใช้นวัตกรรมใหม่เพื่อตอบโจทย์การเปลี่ยนแปลงของโลกตั้งแต่การสร้างรสชาติใหม่โดยการจำลองการหมักกาแฟเลียนแบบทางเดินอาหารสัตว์โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสมชนิด *Lactobacillus plantarum*, *Pichia kudriavzevii* ผสมกับเอนไซม์เปปซิน เอนไซม์จากตับอ่อน (pancreatin) และ การปรับ pH ที่ 2.0 เวลาไม่น้อยกว่า 24 ชั่วโมง ทำให้เกิดรสชาติใหม่ นอกจากนี้ประเด็นด้านสิ่งแวดล้อมส่งผลให้เห็นความสำคัญของการใช้ผลิตผลพลอยได้จากการหมักกาแฟกาแฟที่มีกว่าร้อยละ 60 ได้แก่ เปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟ เมือกกาแฟและน้ำเสียจากการหมักกาแฟ โดยเพคตินจากเมือกที่เป็นชนิด High Methoxy Pectin สามารถนำมาผลิตสารเคลือบส้มเพื่อยืดอายุกว่า 10 วันในขณะที่น้ำหมักกาแฟสามารถนำกลับไปใช้ซ้ำได้ถึงสามครั้ง ทั้งนี้การบำบัดน้ำหมักเป็นสิ่งสำคัญเพื่อลดมลพิษผ่านกระบวนการตกตะกอน กรอง เติมอากาศและพืชบำบัดให้ได้คุณภาพตามมาตรฐานกรมโรงงานอุตสาหกรรม อย่างไรก็ตามการป้องกันการละเมิดสิทธิ์ของการสร้างกาแฟอัตลักษณ์โดยใช้หลักการทาง Chemometric ที่ประเมินอย่างรวดเร็วนี้ตามผลการวิเคราะห์อัตราส่วนของ Cafestol และ Kahweol สามารถระบุอัตลักษณ์แหล่งผลิตกาแฟที่ผลการทดลองยืนยันว่าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่ออัตราส่วนระหว่างกระบวนแปรรูปถือเป็น อัตราส่วนทองคำที่สามารถนำไปใช้ในการควบคุมการซื้อขายนำเข้าเมล็ดได้ ทั้งนี้ผลการวิจัยและพัฒนาการผลิตกาแฟคุณภาพเพื่อมุ่งแก้ไขปัญหาที่ตั้งไว้ ผ่านผลการทดลองที่มีการทดสอบในพื้นที่จริงและแปลงเกษตรกรเพื่อทดสอบความเป็นไปได้ในการต่อยอดสู่ระดับอุตสาหกรรมให้เกิดความยั่งยืน มีการสร้างเครือข่ายการผลิตกาแฟพรีเมี่ยมของกรมวิชาการเกษตรเพื่อสอดรับเทคโนโลยีและพัฒนา ต่อยอดให้ตอบโจทย์ความต้องการของเกษตรกร ป้องกันปัญหาที่สามารถเกิดได้ตลอดกระบวนการผลิตในอนาคต นวัตกรรมการหมักกาแฟ การตรวจสอบแหล่งผลิตทั้งกระบวนการใหม่และต้นแบบผลิตภัณฑ์จากโครงการจะทำให้เกษตรกรสามารถยกระดับคุณภาพกาแฟให้มีการเพิ่มมูลค่า สร้างอัตลักษณ์เฉพาะตัว นอกจากนี้ยังมีการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรจากฐานชีวภาพตอบโจทย์ธุรกิจชีวภาพเชิงสร้างสรรค์ตามนโยบายของภาครัฐกับการเพิ่มมูลค่าเศรษฐกิจการฐานชีวภาพแบบครบวงจร

สำนักวิชาการเกษตร

Abstract

Qualitative Coffee production requires new innovations to meet this disruptive society. To create new coffee flavors by simulating the fermentation of coffee, mimicking the animal feed pathway using mixed microorganisms such as *Lactobacillus Plantarum* and *Pichia Kudriavzevii* mixture combine with pepsin and pancreatic enzymes at pH 2.0 adjustment for at least 24 hours, which enhance mimic 'luwak' flavors. In addition, environmental concerned aborted the important issues, marked the importance of using more than 60% of coffee by-products from coffee fermentation, such as coffee husks, mucilage and wastewater. High methoxy pectin could obtain from coffee mucilage and used to produce 'orange coating' to extend its lifespan by more than 10 days, while coffee ferment water can be reused up to three times. However, the treatment of fermented wastewater is prior to reduce pollution through sedimentation, filtration, aeration processes and wetland plants to meet the national standards. However, in the prevention of infringement of coffee authentication, the results shown the important of chemometric principles, this rapid assessment based on the results of 'Cafestol and Kahweol ratio' analyzes was able to identify coffee producing identities that the experimental results confirmed had no effect on alteration. The ratio of both diterpenes is constant mend to 'the golden ratio' named that can be used to regulate the import coffee bean. The results of research and development on the production of quality coffee to focus on solving the problems that have been set. Through experimental results that are tested in real areas and farmer plots to test the feasibility of extending to industrial level for sustainability. Premium coffee production network of the department of Agriculture has been created to support technology and development, extending to meet the needs of farmers, preventing problems that can occur throughout the manufacturing process in the future. Coffee fermentation innovation Inspection of new production processes and product prototypes from the project will enable farmers to upgrade coffee quality to add value. By creating a unique identity, there is also the utilization of resources from bio-based bases to meet the needs of creative bio-businesses according to the government's policy and to add value to the integrated Bio-Circular-Green based economy.

กรมวิทยาศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตกาแฟคุณภาพ โดยได้รับความร่วมมือจาก สถาบันวิจัยพืชสวน ศูนย์วิจัยและพัฒนาเกษตรหลวงเชียงใหม่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงจังหวัดเชียงราย ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเพชรบูรณ์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก ศูนย์วิจัยพืชสวนเลย และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสตูล รวมทั้งคำแนะนำจากบุคลากรหลายภาคส่วนของกรมวิชาการเกษตรและภาคเอกชน สมาคมกาแฟและชาแห่งประเทศไทย ที่ให้คำปรึกษาและข้อคิดเห็นต่างๆตลอดการวิจัย รวมทั้งร่วมแก้ไขข้อบกพร่องเพื่อสร้างความสมบูรณ์แก่รายงานฉบับเต็ม คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณเกษตรกรผู้ผลิตกาแฟและผู้ประกอบการแปรรูปกาแฟในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย เพชรบูรณ์และตากที่เอื้อเฟื้อผลิตผลเกษตรและร่วมให้คำแนะนำในการพัฒนางานวิจัย วิเคราะห์ปัญหาและให้ความร่วมมือกับทางกรมวิชาการเกษตร

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากการศึกษาวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ให้ความอนุเคราะห์ทุกภาคส่วนที่ให้คำแนะนำและร่วมมือปฏิบัติงานทดลอง ซึ่งถือเป็นกำลังใจสำคัญในการพัฒนานวัตกรรมใหม่สู่วงการกาแฟประเทศไทยสู่ระดับสากล

นายโกเมศ สัตยาวุธ
นางสาวสุกัญญา นิติยนต์
นางสาวฉัตรนภา ข่มอาวุธ
นางสุภัทรา เลิศวัฒนาเกียรติ

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทสรุปผู้บริหาร	2
บทคัดย่อ	3
Abstract	4
กิตติกรรมประกาศ	5
สารบัญ	6
สารบัญภาพ	7
สารบัญตาราง	9
บทที่ 1 บทนำ	11
บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน	18
บทที่ 3 ผลการศึกษา	27
บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล	63
เอกสารอ้างอิง	66

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญภาพ

ชื่อภาพ	หน้า
Figure 1 Coffee fermentation problem analysis and by-products from coffee processing	13
Figure 2 The life cycle of coffee products and residues generation steps (red boxes indicate major steps of coffee by-products)	16
Figure 3 Growth of *Colletotrichum gleosporoides* in control compared to 40% CPE (Cherry Pod Extract) in NA for 30 days of experiment	28
Figure 4 Application on nursery for young coffee plant (butterfly state) using 40% of CPE and control replication with in prior infected by Colletotrichum gleosporoides	29
Figure 5 Cherry pod transformation for on-purpose utilization on food products using sun-drying method (14 days of exposed sun-dry)	29
Figure 6 Cherry pod classification for on-purpose utilization separated by grind size	29
Figure 7 Principal Component Analysis of orange properties described after using 8 treatment of coffee pectin coating suggest in 2 groups varies by their appearance, chemical content, and sensory evaluation	30
Figure 8 Chromatogram analyzed by HPME-GC-O-FID-MS of Coffee Flavor profiles using reused water (3rd recycle) for fermentation which obviously shown the augmentation of flavor amount of volatiles compounds, mostly in fatty acid contains when using recycling water sample.	33
Figure 9 Demonstration protocol of coffee waste treatment method in fifth steps from sump tank to sedimentation tank then the filtration tank combined with aerated tank and stocking the pretreatment water in wetland tank for further used in field or recycling water cycle.	34
Figure 10 Important following parameter during coffee wastewater treatment iimportant parameter of wastewater during coffee wastewater treatment described in the increasing of water pH contain and the reduction of Total dissolved solid (TDS)	35
Figure 11 Field application of coffee wastewater treatment concept in large scale; (a) – (e) show the upscaling for 100 liters treatment and (f) the pretreatment water after wetland from three treatment (landfill, canna, cattail)	36

กรมวิทยาศาสตร์

Figure 12 A.) Coffee fermentation profiles explain in pH, Brix and Turbidity (NTU) and **B.)** Coffee cupping spider of traditional wet process (Control), fermentation by using civet microbes and enzymes (pepsin and pancreatin) process and civet coffee 42

Figure 13 A.) Coffee fermentation profiles explain in pH, Brix and Turbidity (NTU) and **B.)** Coffee cupping spider of three treatments (Control, pH2, pH4) and civet coffee. 43

Figure 14 Coffee fermentation profiles of four treatments (Control, HCl, Pepsin and pancreatin) explain in pH, Brix and Turbidity (NTU) in fermentation jar. 44

Figure 15 Chromatograms of chemical compounds in roasted fermentation coffee and civet coffee. 45

Figure 16 Chemical compounds in roasted fermentation coffee and civet coffee. 46

Figure 17 Coffee cupping spider of simulation of animal digestive system (Microbe + Enzyme + pH2 + 24h), control and Civet coffee. 46

Figure 18 Ratio of Cafestol/Kahweol during *C. Arabica* Fermentation period 51

Figure 19 Effect of different drying method on Cafestol and Kahweol content in perisperm tissue during *C. arabica* fermentation 52

Figure 20 Shown evaluation of coffee oil content in six types after 210 days of storage 53

Figure 21 Summarize of Diterpenes variation during coffee processing life cycle with the critical point of diterpenes amounts which referred to different processing techniques 59

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญตาราง

ชื่อตาราง	หน้า
Table 1 Average ratio of composition of coffee pulp in Thai Coffee	27
Table 2 Average ratio of composition of coffee mucilage in Thai Coffee	27
Table 3 Average ratio of characteristics of coffee fermented wastewater	28
Table 4: Average ratio of pectin composition in coffee pulp and coffee mucilage	31
Table 5: Identification by FTIR & Characterization of pectin extract from coffee pulp & coffee mucilage compared to lab and commercial standard	31
Table 6: Properties of Orange Coating by Coffee Pectin after 10 days of storage at ambient temperature in plastic basket	32
Table 7: Average ratio of Coffee wastewater in Doi Chang coffee production site, 2021 production years	37
Table 8 Description of chemical and flavor profile of coffee bean using coffee recycling water to ferment compared to native coffee fermentation method.	38
Table 9 Field trial on coffee wastewater treatment using three wetland styles (Landfills, Canna and Cattail)	39
Table 10 Finalization of coffee wastewater parameters after treatment in pilot farm plant. The result shown the amelioration of the entire parameter compared to ISI standard which confirmed the capable of pretreatment water reuse in farm or coffee production plant.	40
Table 11 Chemical compounds and flavor/aroma description of fermentation coffee	47
Table 12 Cost investment of different fermentation method (1 kilograms of green coffee beans)	48
Table 13 Average fatty Acid composition in Thai Coffee Oil extracted (200 Sample of *C.arabica* and *C. canephora* planting between 700 – 1,200 metres altitudes and cultivated in Thailand during 2018 - 2021	49
Table 14 Cafestol and Kahweol content in Thai coffee separated with different tissues in *C. arabica* and *C. canephora* compared to the content report by R. Eloy Diaz (2010)	50
Table 15 Yield (g100. g^{-1}) of diterpenes in Thailand green Arabica coffee oil	53

กรมวิชาการเกษตร

(Chiangmai 80 varieties from Chiang Rai 'Wawi' site with C/K *in prior* 0.24) after 300days of storage at 30C and Humidity below than 70%

Table 16 Cafestol and Kahweol ratio in Coffee Roasting during *C. Arabica and C. canephora* in four different regions **54**

Table 17 Cafestol and Kahweol ratio in Coffee Roasting during *C. Arabica* from Chiang Mai (Khun Wang region) using Espresso extraction for 9 bars in grinding scale using Kruve® Scale for categorized coffee particle **55**

Table 18 Cafestol and Kahweol ratio in Coffee Roasting during *C. Arabica* from Chiang Mai (Khun Wang region) using Espresso extraction for 9 bars in different times of extraction **55**

Table 19 Authentication and Identification compounds (Cafestol and Kahweol) ratio in perisperm tissue during *C. Arabica and C. canephora* fruit development (DAF 120) in different regions **56**

Table 20 Description of Case Studies of variation in 'Premium Coffee Research station' located in seven regions of Thailand observed during 2018 - 2021 **57**

Table 21 Description of Case Studies of variation in 'Premium Coffee Farm' located in seven regions of Thailand observed during 2018 - 2021 **58**

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 1 บทนำ

1. วิสัยทัศน์ และพันธกิจของหน่วยงาน

วิสัยทัศน์

โครงการวิจัยและพัฒนากระบวนการหมักกาแฟอาราบิก้าคุณภาพจึงเป็นงานวิจัยที่จะพัฒนาเทคโนโลยีหมักกาแฟอาราบิก้า เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียและยีสต์ในกระบวนการหมักที่มีการเติมหัวเชื้อยีสต์ เพื่อย่อยเมือกหุ้มของเมล็ดกาแฟ และนำไปเป็นแนวทางในการควบคุมสภาวะและระยะเวลาการหมักที่มีผลต่อคุณภาพกลิ่นรส ซึ่งจะประเมินจากการวัดคุณภาพของเมล็ดกาแฟที่ผ่านการคั่ว และนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตเพื่อเพิ่มคุณภาพ ลดต้นทุนและเวลาการผลิต รวมทั้งเป็นการเพิ่มมูลค่าของเมล็ดกาแฟอาราบิก้า นอกจากนี้ยังค้นคว้าเทคโนโลยีใหม่ในการหมักกาแฟอาราบิก้าภายในภาวะแอนแอโรบิก พร้อมทั้งพัฒนาเครื่องต้นแบบช่วยหมักกาแฟอาราบิก้าและนำผลิตผลพลอยได้จากการหมักไปใช้ประโยชน์ เน้นการจัดการการผลิตแบบ Zero-waste process หรือการจัดการการผลิตที่ไม่มีของเสียออกจากระบวนการผลิต โดยมุ่งเน้นการนำไปใช้ประโยชน์จากการสกัดสารสำคัญและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารและการเกษตร

โครงการวิจัยนี้ มีเป้าหมายเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของระยะการสุกต่างๆ ของผลเชอรี่ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความหวานและปริมาณสาร indole ในกาแฟพันธุ์เชียงใหม่ 80 และชุมพร 2 เพื่อจัดทำดัชนีการเก็บเกี่ยวเมล็ดกาแฟที่มีผลต่อคุณภาพและรักษารสชาติของกาแฟให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เก็บข้อมูลอัตลักษณ์กาแฟไทยพื้นฐานในแต่ละท้องถิ่นโดยการศึกษาปริมาณสาร Cafestol และKahweol เพื่อจัดทำฐานข้อมูลในการสร้างมาตรฐานในการผลิตกาแฟที่เหมาะสมของประเทศไทย นอกจากนี้ยังมุ่งเน้นพัฒนาคุณภาพเมล็ดกาแฟโดยเปรียบเทียบกับมาตรฐานของเมล็ดกาแฟต่างประเทศ กำหนดลักษณะข้อบกพร่องเฉพาะถิ่น ข้อกำหนดที่จะทำให้คุณภาพเมล็ดกาแฟได้คุณภาพ และคุณภาพของเมล็ดกาแฟที่ไม่ได้ผลิตในประเทศหรือในภูมิภาคทำให้ผู้ประกอบการประสบปัญหาให้ปฏิบัติตามมาตรฐานและสามารถควบคุมคุณภาพได้เพื่อมุ่งหวังให้กาแฟยกระดับให้กาแฟมีราคาที่สูงขึ้น เมล็ดที่ตกเกรดมีปริมาณน้อย หรือหากคุณภาพของเมล็ดที่ตกเกรดแต่มีกลิ่นและรสชาติของกาแฟในพันธุ์นั้นๆ ไม่แตกต่างกับเมล็ดกาแฟดี ก็จะสามารถปรับเกรดคุณภาพกาแฟไทยใหม่ เพื่อสามารถลดปริมาณกาแฟตกเกรด ยกระดับคุณภาพ และสามารถใช้ข้อมูลเพื่อยืนยันข้อมูลการรับรองคุณภาพเมล็ดกาแฟไทย ให้มีคุณภาพทัดเทียมกับประเทศคู่แข่งในภูมิภาคเดียวกันหรือของโลกได้

พันธกิจ

การวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มการผลิตกาแฟคุณภาพ โดยศึกษาเทคโนโลยีการแปรรูป นำกระบวนการหมักที่มีคุณภาพไปใช้เพื่อลดระยะเวลาและแรงงานในการหมักกาแฟ อีกทั้งยังนำเมือกกาแฟที่เป็นผลพลอยได้จากการใช้ถังหมักไปทำผลิตภัณฑ์ใหม่ เป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มการลดปริมาณขยะและของเสียจากการแปรรูปกาแฟ มีความสอดคล้องกับแนวทางเชิงยุทธศาสตร์ชาติด้านการสร้างความสามารถในการแข่งขัน โดย “ต่อยอดอดีต”ซึ่งไปพัฒนาการยกระดับศักยภาพการผลิตกาแฟของไทย “สร้างคุณค่าใหม่ในอนาคต” โดยการเพิ่มศักยภาพของการผลิตของผู้เกี่ยวข้องในการผลิตกาแฟ ตั้งแต่ต้นน้ำในการผลิตกาแฟคุณภาพ ตลอดจนการแปรรูปกาแฟในนวัตกรรมใหม่ เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของตลาด มีการขยายโอกาสทางการค้า ควบคู่กับการสร้างรายได้

กรมวิชาการเกษตร

2. ยุทธศาสตร์ชาติที่สอดคล้องกับแผนปฏิบัติงานด้าน ววน. ของหน่วยงาน (โปรดเลือกเฉพาะยุทธศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับหน่วยงานของท่าน)

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 1 ด้านความมั่นคง

เพื่อบริหารจัดการสภาวะแวดล้อมของประเทศให้มีความมั่นคง ปลอดภัย และมีความสงบเรียบร้อยในทุกระดับและทุกมิติ

☑ ยุทธศาสตร์ที่ 2 ด้านการสร้างความสามารถในการแข่งขัน

เน้นการยกระดับศักยภาพในหลากหลายมิติควบคู่กับการขยายโอกาสของประเทศไทยในเวทีโลก

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 3 ด้านพัฒนาและเสริมสร้างศักยภาพทรัพยากรมนุษย์

คนไทยในอนาคต มีความพร้อมทั้งกาย ใจ สติปัญญา มีทักษะที่จำเป็นในศตวรรษที่ 21 มีทักษะสื่อสารภาษาอังกฤษและภาษาที่ 3 และมีคุณธรรม

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 4 ด้านการสร้างโอกาสและความเสมอภาคทางสังคม

สร้างความเป็นธรรม และลดความเหลื่อมล้ำในทุกมิติ กระจายศูนย์กลางความเจริญทางเศรษฐกิจและสังคม เพิ่มโอกาสให้ทุกภาคส่วนเข้ามาเป็นกำลังของการพัฒนาประเทศในทุกระดับ

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 5 ด้านการสร้างการเติบโตบนคุณภาพชีวิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

คำนึงถึงความยั่งยืนของฐานทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ปรับเปลี่ยนพฤติกรรมของประชาชนให้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ผ่านมาตรการต่างๆ ที่มุ่งเน้นให้เกิดผลลัพธ์ต่อความยั่งยืน

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 6 ด้านการปรับสมดุลและพัฒนาระบบการบริหารจัดการภาครัฐ

การปรับเปลี่ยนภาครัฐ ยึดหลัก “ภาครัฐของประชาชนเพื่อประชาชนและประโยชน์ส่วนรวม”

3. วงเงินงบประมาณกองทุน ววน. ที่ได้รับจัดสรรในปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 และโปรดระบุแผนงาน/โครงการให้สอดคล้องกับโปรแกรมของแผน ววน.

โปรแกรมตามแผน ววน.	งบประมาณ (บาท)
โปรแกรม.....	1,200,000

4. รายละเอียดโครงการ

ที่มาและความสำคัญ/หลักการและเหตุผล

กาแฟ เป็นเครื่องดื่มที่มีความนิยมอย่างสูงของผู้บริโภคทั่วโลก ได้ถูกจัดเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมและการส่งออกของประเทศไทย สายพันธุ์ที่มีการนิยมปลูกในประเทศไทยคือ พันธุ์อาราบิก้าที่ปลูกในภาคเหนือตะวันออกเฉียงเหนือ และพันธุ์โรบัสต้าที่ปลูกในภาคใต้ ซึ่งความแตกต่างของทั้งสองสายพันธุ์ในด้านกลิ่นรส จึงทำให้กาแฟพันธุ์อาราบิก้ามีกลิ่นหอมและรสชาติที่ดีกว่าพันธุ์กาแฟโรบัสต้า และได้รับความนิยมนำมาใช้ผลิตเป็นกาแฟคั่วบดมีคุณภาพและราคาสูงในท้องตลาดปัจจุบัน ในกระบวนการผลิตกาแฟจะเป็นส่วนหนึ่งที่ส่งผลต่อคุณภาพของกลิ่นและรสชาติของกาแฟ โดยทั่วไปจะมีสองวิธี คือ กระบวนการแปรรูปแบบเปียก และกระบวนการแปรรูปแบบแห้ง ซึ่งแต่ละวิธีจะให้คุณภาพของเมล็ดกาแฟและกลิ่นรสที่แตกต่างกัน โดยหลังจากการเก็บเกี่ยวกาแฟจะมีการลอกเชอร์รี่ออก จากนั้นในกระบวนการผลิตกาแฟอาราบิก้าคุณภาพจะใช้กระบวนการแปรรูปแบบเปียก (Sivetz, 1963) เป็นการนำเมล็ดกาแฟที่ผ่านการลอกเปลือกนอกออก แล้วนำมาหมักลงในถังหมักโดยจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มากับเมล็ดกาแฟจะทำการหมักเพื่อย่อยเมือกหุ้มเมล็ดกาแฟ ซึ่งเป็นส่วนของเพคติน น้ำตาล เฮมิเซลลูโลส

สำนักงานปลัดกระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

และส่วนที่ไม่ละลายน้ำ จึงต้องอาศัยกิจกรรมจุลินทรีย์และเอนไซม์ในการย่อยสลาย จุลินทรีย์ที่พบส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียและยีสต์ จากการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่มีความเกี่ยวข้องกับการหมักเมล็ดกาแฟอาราบิก้ายังมีน้อยมากในประเทศไทยและการศึกษาที่ผ่านมาจะเป็นงานวิจัยทางด้านคุณภาพ เช่น ปัจจัยการผลิตที่มีผลต่อสารให้กลิ่นรสของกาแฟผสมแบบไทย การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบระเหย และกรดอินทรีย์ระหว่างกระบวนการหมักของกาแฟอาราบิก้าที่ปลูกในประเทศไทย (นนทวัชร, 2547) ทั้งนี้ในปัจจุบันเกษตกรได้ละเลยกระบวนการหมักดังกล่าวไปมาก โดยเลือกที่จะใช้กระบวนการแปรรูปแบบแห้งเนื่องมาจากข้อจำกัดด้านเวลา สถานที่ แรงงานและค่าใช้จ่าย จึงส่งผลให้คุณภาพกาแฟอาราบิก้าลดลง ทำให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับ เกิดสารพิษและสารให้กลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในกาแฟตามท้องตลาด นอกจากนี้ปัญหาขยะและสิ่งเหลือใช้จากกระบวนการหมักกาแฟยังส่งผลกระทบต่อเกษตรกรและผู้ประกอบการกาแฟที่ส่งปัญหาด้านมลภาวะทางอากาศ น้ำและดินในโรงงานผลิตและแปลงกาแฟเองโดยสามารถสังเกตได้จากแผนภาพแสดงกระบวนการหมักกาแฟดังนี้

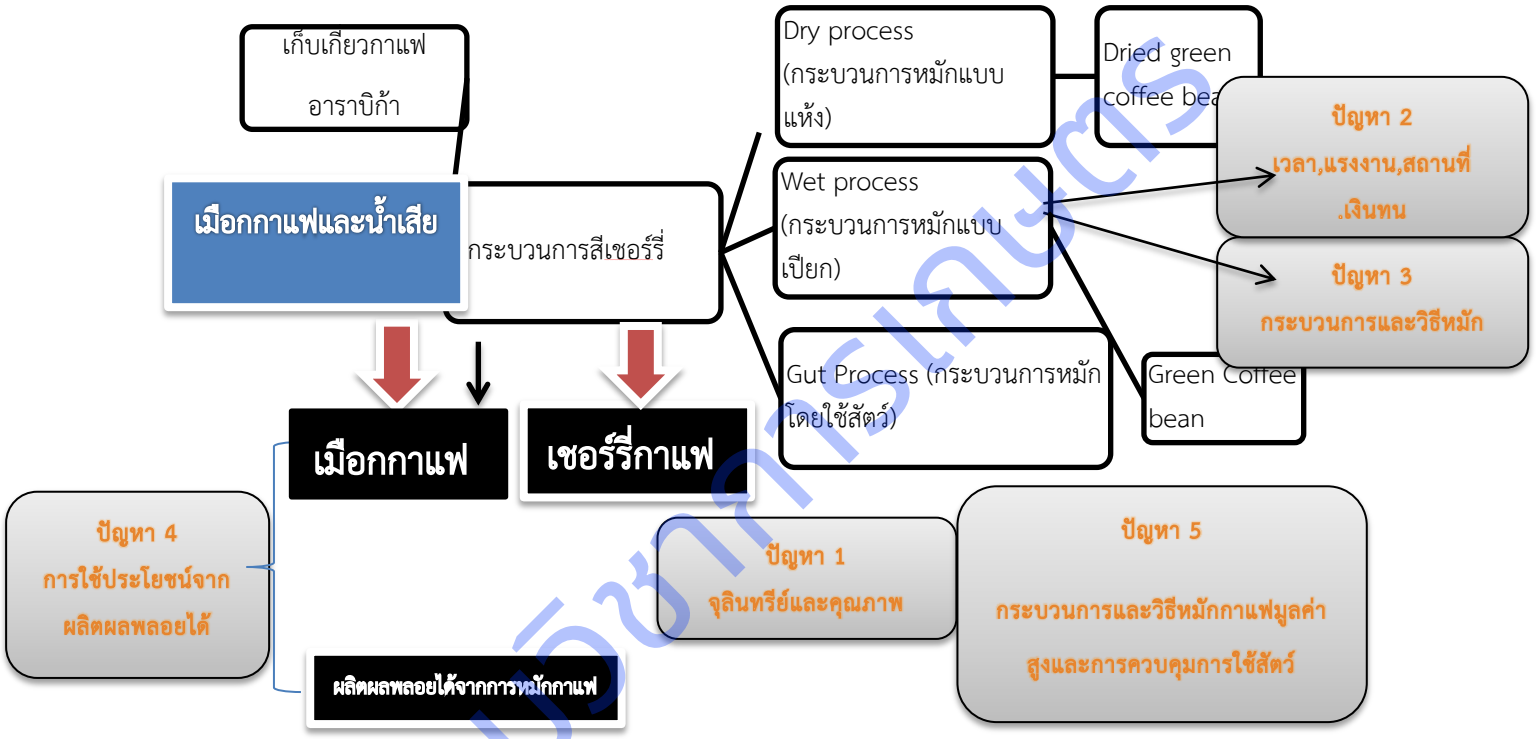


Figure 1 Coffee fermentation problem analysis and by-products from coffee processing

กระบวนการหลังการเก็บเกี่ยวในการแปรรูปกาแฟอาราบิก้าเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อคุณภาพของกาแฟ โดยในประเทศไทยนั้นมีการแปรรูป 2 วิธีการ คือ การแปรรูปแบบเปียก (การหมัก) และการแปรรูปแบบแห้ง ซึ่งการแปรรูปกาแฟแบบเปียกถือเป็นวิธีการที่มีคุณภาพในการผลิตกาแฟอาราบิก้า กาแฟที่มีการหมักเพื่อย่อยเมือกหุ้มเมล็ดออก (digested mucilage) จะมีคุณภาพที่ดีกว่าเมล็ดกาแฟที่ล้างแบบธรรมดา (washed bean) และดีกว่าเมล็ดกาแฟที่ไม่เอาเมือกออก (mucilage bean) การหมักกาแฟแบบดั้งเดิมนั้นเกิดขึ้นโดยจุลินทรีย์ธรรมชาติที่มากับเมล็ดกาแฟมีการเจริญ และย่อยเมือกหุ้มเมล็ดกาแฟ ซึ่งเป็นส่วนของ เพคติน น้ำตาล เฮมิเซลลูโลส และส่วนที่ไม่ละลายน้ำ (Wrigley, 1988) โดยจุลินทรีย์ที่พบส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียและยีสต์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายเพคตินได้ นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียแลคติกและยีสต์กลุ่มอื่นๆที่ไม่สร้างเอนไซม์ย่อยสลายเพคตินด้วย (Avallone et. al., 2001; Avallone et. al., 2002; Silva et. al. 2013)

นอกเหนือจากการหมักกาแฟตามกรรมวิธีการผลิตแบบดั้งเดิมแล้ว การหมักกาแฟโดยใช้สัตว์เช่น กาแฟขี้ชะมด กาแฟขี้ช้าง กาแฟขี้วัว เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่เพิ่มมูลค่าของให้กับกาแฟในท้องตลาด ซึ่งปัจจุบันราคาของกาแฟขี้ชะมดที่ปรุงสำเร็จในประเทศไทยมีราคาสูงถึงถ้วยละ 500-1500 บาท โดยมูลค่าที่สูงของกาแฟขี้ชะมดนั้นอาจเป็นผลมาจากความยากของกรรมวิธีการ

สำนักวิทยบริการฯ

ผลิตและความชอบส่วนบุคคลของผู้บริโภค แต่อย่างไรก็ตามวิธีการนี้ถือเป็นกรรมวิธีที่ทำให้กาแฟมีคุณสมบัติทางกายภาพ กลิ่นและรสชาติแตกต่างจากการผลิตกาแฟแบบดั้งเดิม เป็นการเพิ่มความหลากหลายของกาแฟให้กับผู้บริโภค กาแฟขี้ชะมดเป็นกาแฟพื้นเมืองของอินโดนีเซียซึ่งเป็นที่รู้จักทั่วโลกเนื่องจากมีกลิ่นและรสที่เฉพาะตัว โดยกลิ่นรสของกาแฟขี้ชะมดได้เคยมีการอธิบายว่าจะอยู่ในกลุ่มของกลิ่น earthy, musty, syrupy, smooth, และ chocolate (Massimo, 2004) การผลิตกาแฟขี้ชะมดแบบดั้งเดิมเกิดขึ้นโดยอาศัยจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่มีอยู่ภายในระบบย่อยอาหารของชะมด การผลิตกาแฟขี้ชะมดโดยใช้สัตว์ในการผลิตมีข้อด้อยหลายประการ ได้แก่ ผลิตได้ในปริมาณน้อย ยากต่อการควบคุมคุณภาพ ผู้บริโภคบางกลุ่มไม่ต้องการบริโภคเนื่องจากคำนึงถึงความสะอาดถูกสุขลักษณะอนามัย และเป็นการทรมานสัตว์ ดังนั้นจึงมีงานวิจัยเพื่อที่จะผลิตกาแฟที่มีความคล้ายคลึงกับกาแฟขี้ชะมดทดแทนการใช้สัตว์ในการผลิต โดยพัฒนาหมักกาแฟในถังหมักร่วมกับการใช้เอนไซม์และจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากขี้ชะมด (Fitri and Laga, 2019)

การหมักกาแฟโดยจำลองระบบย่อยอาหารของชะมด สามารถทำได้โดยการคัดแยกและจัดจำแนกจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบย่อยอาหารของชะมด ได้แก่ กระเพาะอาหาร, ลำไส้เล็ก, ลำไส้ใหญ่ โดยจุลินทรีย์ที่พบในลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่มีจำนวนมากกว่าที่พบในกระเพาะอาหาร เนื่องจากในกระเพาะอาหารมีสภาวะที่เป็นกรดมากจึงทำให้มีจุลินทรีย์ปริมาณน้อยสามารถอาศัยอยู่ได้ จุลินทรีย์ที่พบมากในลำใส่ใหญ่ ได้แก่ *Enterobacter cloacae* และ *Lactobacillus brevis* (Suhandono et al, 2016) นอกจากจุลินทรีย์ที่คัดแยกระบบย่อยอาหารแล้ว ยังสามารถคัดแยกจุลินทรีย์กรดแลคติกซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในการหมักกาแฟได้จากขี้ของชะมดได้อีกด้วย โดยแบคทีเรียแลคติกที่คัดแยกได้จากขี้ชะมดได้แก่ *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus brevis, Leuconostoc paramesenteroides, Leuconostoc mesenteroides, Leuconostoc dextranicum* และ *Streptococcus faecium* (Fitri et al, 2019)

การทดสอบคุณภาพของกาแฟที่ได้จากการหมักสามารถทำได้โดยการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยการชิม (Cupping test) นอกจากนั้นยังสามารถทดสอบโดยการเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีได้อีกด้วย โดย Massimo (2004) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบและคุณสมบัติของกาแฟขี้ชะมด โดยเปรียบเทียบระหว่างกาแฟขี้ชะมดที่ได้จากอินโดนีเซีย (Indonesian plam civet coffe) และ กาแฟขี้ชะมดที่ได้จากเอธิโอเปีย (Ethiopian civet coffee) พบว่าเมื่อทำการทดสอบกลิ่นด้วยเครื่องจมูกอิเล็กทรอนิกส์ (Electronic nose) กลิ่นของกาแฟขี้ชะมดที่ผลิตจากต่างที่กันให้ผลที่ต่างกัน และเมื่อศึกษาโครงสร้างของกาแฟโดยวิธี SDS-PAGE พบว่าน้ำย่อยในระบบย่อยอาหารของสัตว์มีผลต่อการตัดสายโปรตีนของเมล็ดกาแฟ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้กลิ่นและรสของกาแฟขี้ชะมดแตกต่างจากกาแฟที่ผลิตตามวิธีดั้งเดิม ในปี 2013, Jumhawan และคณะได้ศึกษาสารสำคัญที่เป็นเครื่องหมายในการตรวจวิเคราะห์กาแฟขี้ชะมดแท้ของอินโดนีเซียเปรียบเทียบกับกาแฟที่ผลิตโดยวิธีปกติ โดยศึกษาจากตัวอย่างกาแฟขี้ชะมด 21 ตัวอย่าง พบว่า Citric acid, malic acid และอัตราส่วนของ inositol/pyroglutamic acid สามารถนำมาใช้เป็นสารเครื่องหมายในการตรวจวิเคราะห์กาแฟขี้ชะมดแท้ได้

อัตลักษณ์ของผลผลิตกาแฟ เป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มจากการผลิตกาแฟสู่มาตรฐานการผลิตกาแฟพิเศษ หรือการพัฒนากาแฟเฉพาะถิ่นที่ส่งเสริมคุณภาพเฉพาะของผลผลิต โดยปัจจุบันมีปริมาณการผลิตกาแฟกว่า 16 ล้านล้านปอนด์ของเมล็ดกาแฟต่อปีส่งผลให้เกิดการแข่งขันทางการตลาดมากมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาการสวมสิทธิ์เพื่อการค้าในตลาดที่ให้ราคาปริมาณสูง การจำแนกเมล็ดกาแฟเพื่อการซื้อขายนั้นจะใช้เกณฑ์การคัดเกรดสารกาแฟและผลการทดสอบชิมเป็นหลัก ตามมาตรฐานการผลิตของสมาภัณฑ์กาแฟโลก (International Coffee Organization : ICO) อย่างไรก็ตามยังพบการละเมิดแหล่งผลิตให้เห็นเป็นข่าวบ่อยครั้ง นอกจากนี้ยังพบเห็นร้ายแรงเกี่ยวกับการก่อการร้ายทางอาหาร (Food Fraud) ทำให้การซื้อขายกาแฟมีการกำหนดข้อกำหนดที่รัดกุมมากด้วยพืชกาแฟมีราคาซื้อขายที่ผกผันตามตลาดหุ้นระหว่างประเทศกล่าวคือเมล็ดกาแฟอะราบิก้าจะขึ้นอยู่กับตลาดหุ้นนิวยอร์กและเมล็ดกาแฟโรบัสต้าที่เกี่ยวเนื่องกับตลาดหุ้นลอนดอน ซึ่งปัจจุบันกาแฟถือเป็นสินค้าทางการเกษตรชนิดแรกที่มีการใช้แลกเปลี่ยนเป็นเงินสกุลดิจิตอลได้ทำให้การสืบหาแนวทางการพิสูจน์อัตลักษณ์ที่ถูกต้องเพื่อรับรองแหล่งผลิตสินค้าเป็นประเด็นสำคัญและจำเป็นมากในการผลิต

กรมวิชาการเกษตร

สารประกอบที่ส่งผลต่ออัตลักษณ์ของกาแฟที่สำคัญเพื่อจำแนกประเภทนอกจากการตรวจสอบ DNA ของชนิดกาแฟซึ่งมีค่าใช้จ่ายสูงและใช้เวลานานในการทดสอบ และด้วยมีการกระจายพันธ์ผลิตกาแฟไปทั่วโลกไม่มีกฎหมายแน่นอนในการควบคุมสายพันธ์กาแฟทำให้ไม่สามารถจำแนกแหล่งที่มาของกาแฟได้แน่ชัด การใช้เทคโนโลยีด้านโอมิกซ์จึงเป็นคำตอบของปัญหาการจำแนกอัตลักษณ์ของกาแฟโดยสารประกอบที่สำคัญของกาแฟที่สามารถระบุถึงคุณภาพของกาแฟได้นั้นจะอยู่ในน้ำมันของเมล็ดกาแฟ โดยหลังจากการแปรรูปกาแฟสารประกอบที่ละลายน้ำได้ ได้แก่ สารอินทรีย์ คาร์โบไฮเดรตจะสลายไปในน้ำทิ้งจากการผลิตกาแฟดังนั้นคุณภาพของกาแฟโดยเฉพาะกลิ่น รสของกาแฟจะคงเหลืออยู่ในส่วนของน้ำมันในเมล็ดกาแฟ (Coffee oil) ซึ่งจากการวิเคราะห์ส่วนประกอบของน้ำมันในเมล็ดกาแฟนั้นจะประกอบไปด้วยสารประกอบ Triacylglycerols กว่าร้อยละ 75 และสาร Diterpene กว่าร้อยละ 20 โดยปริมาณของไขมันจะอยู่ในส่วยของ triacylglycerols และพบว่าปริมาณกรดไขมันในเมล็ดกาแฟจะประกอบด้วยกรดไขมันชนิด C16:0 (Palmitic Acid) และ C18:2 (Linoleic Acid) ทั้งกาแฟอะราบิก้าและโรบัสต้า

สาร Diterpenes ในกาแฟเป็นสารชนิด pentacyclic diterpene alcohols ที่มี kauran skelenton ประกอบด้วยสาร Kahweol และ Cafestol เป็นหลักซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้จะแปรผันไวต่อปริมาณกรด ความร้อนและแสงทำให้การศึกษาเพื่อกำหนดคุณภาพกาแฟระหว่างการแปรรูปเชิงลึกมีการใช้ปริมาณของสารชนิดนี้ได้แก่ ในระหว่างการคั่วกาแฟมีการใช้สาร Cafestol เป็นสารกำหนดคุณภาพการคั่วกาแฟซึ่งผลการศึกษาสามารถกำหนดถึงปริมาณการเบลนกาแฟที่เหมาะสมระหว่างกาแฟอะราบิก้าและโรบัสต้าได้อีกด้วย (Speer, 1993) โดยในประเทศเยอรมันมีการใช้สาร Cafestol ในการกำหนดระดับการคั่วกาแฟที่มีการพัฒนาวิธีการคั่วโดยกระบวนการที่เรียกว่า DIN Method No.10779 (German institute for standardization, 1999) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของประมาณสารทั้งสองชนิดในกระบวนการชงกาแฟ (Silva, 2015) ได้อธิบายถึงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารดังกล่าวระหว่างการทดสอบชงกาแฟเอสเพลสโซว่าปริมาณสารทั้งสองชนิดจะลดลงจาก 58 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม เป็น 30 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม จากอุณหภูมิน้ำที่เปลี่ยนแปลงจาก 70 องศาเซลเซียสเป็น 90 องศาเซลเซียส

การศึกษาปริมาณของสาร Cafestol และ Kahweol ยังให้ความสำคัญถึงผลกระทบทางสุขภาพอีกด้วยโดยมีรายงานว่าสารกลุ่ม diterpene ทั้งสองชนิดนี้ส่งผลต่อการสลายตัวของสารพิษชนิด Aflatoxin B1 โดยผลการทดสอบในเซลล์ตับในหนูทดลองและเซลล์มนุษย์ที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสารทั้งสองชนิดมีปฏิกิริยาต่อต้านสาร Aflatoxin B1 ทำให้เกิดปฏิกิริยา AFBO detoxification หรือการขับสารพิษออกจากเซลล์ตับทั้งในหนูและมนุษย์ (Cavin, 2001) โดยมีการศึกษาเพิ่มเติมตั้งแต่ในแปลงผลิตกาแฟว่ามีการกระจายตัวของสารทั้งสอบชนิดในส่วนต่างๆของกาแฟทั้งผลกาแฟสด ใบกาแฟและต้นกาแฟ ซึ่ง Eloy Dias, 2010 พบว่ามีการกระจายตัวของสาร diterpene ใน endosperm และ perisperm ของกาแฟอะราบิก้าและในเนื้อผล (pericarp) และใบของกาแฟโรบัสต้า แสดงให้เห็นถึงการสะสมของปริมาณสารกลุ่มดังกล่าวตั้งแต่ในแปลงเพาะปลูกตลอดกระบวนการผลิต โดยผลิตภัณฑ์กาแฟที่มีขายตามท้องตลาดพบการกล่าวอ้างถึงส่วนผสมที่สามารถเพิ่มราคาได้และมูลค่าการผลิตได้เช่น 100% อะราบิก้า หรือกาแฟจากพื้นที่สูง (highland coffee) ซึ่งมีการยืนยันถึงผลการใช้สาร diterpenes ทั้งสองชนิดในการควบคุมผลิตภัณฑ์กาแฟในท้องตลาดเช่นการศึกษาของ Schievano,2014 ที่มีการพัฒนาหลักการของ DIN 10779 โดยใช้เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance มาเพิ่มศักยภาพในการตรวจวิเคราะห์และความรวดเร็วของการตรวจสอบปริมาณของตัวอย่างกาแฟ และ Burton,2020 ในการใช้ปริมาณสารทั้งสองชนิดการทำนายแหล่งที่มาของกาแฟคั่วและการพยากรณ์การเบลนกาแฟ (Figure 2)

กรมวิชาการเกษตร

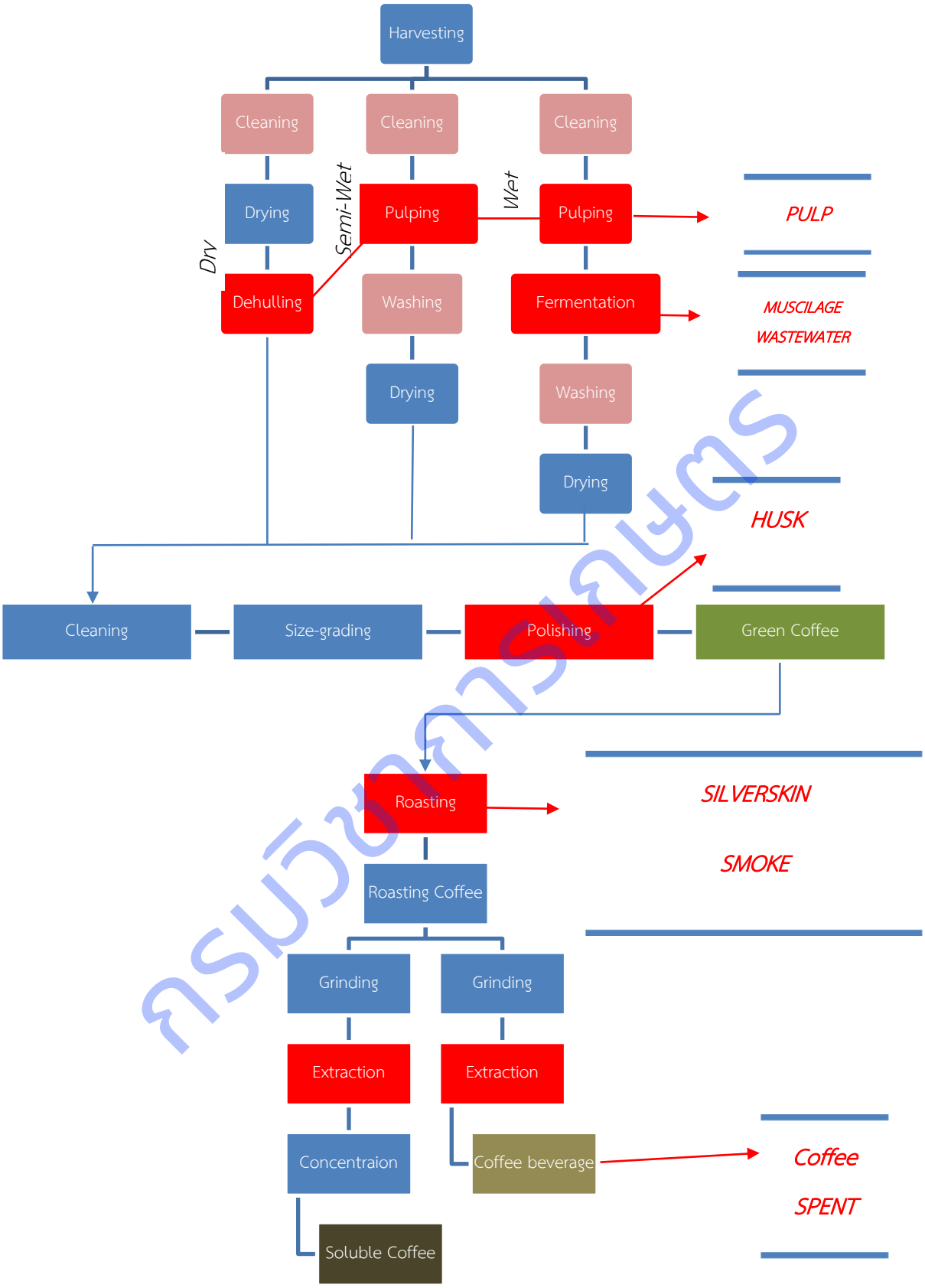


Figure 2 The life cycle of coffee products and residues generation steps (red boxes indicate major steps of coffee by-products)

กรมวิทยาศาสตร์

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาสารสำคัญในเมือกกาแฟและเปลือกกาแฟและการนำใช้ประโยชน์จากเมือกกาแฟและเปลือกกาแฟในรูปแบบอาหาร

2. เพื่อศึกษาการหมักกาแฟโดยจำลองระบบการย่อยอาหารของสัตว์ เพื่อเก็บข้อมูลจุลินทรีย์ กลิ่น รส และสารสำคัญในระหว่างการหมักกาแฟสำหรับเป็นข้อมูลในการพัฒนาเทคโนโลยีและคุณภาพการแปรรูปกาแฟ ทดแทนการใช้สัตว์ในการหมักกาแฟ

3. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารสำคัญกลุ่ม Cafestol และ Kahweol ตั้งแต่ระยะการเก็บเกี่ยวตลอดกระบวนการแปรรูปและระบุอัตราส่วนเฉพาะเพื่อส่งเสริมการผลิตกาแฟคุณภาพเฉพาะถิ่นได้

ขอบเขตการศึกษา

โครงการวิจัยและพัฒนากระบวนผลิตกาแฟคุณภาพเป็นงานวิจัยที่จะพัฒนาเทคโนโลยีหมักกาแฟอาราบิก้า เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียและยีสต์ในกระบวนการหมักที่มีการเติมหัวเชื้อยีสต์ เพื่อย่อยเมือกหุ้มของเมล็ดกาแฟ และนำไปเป็นแนวทางในการควบคุมสภาวะและระยะเวลาการหมักที่มีผลต่อคุณภาพกลิ่นรส ซึ่งจะประเมินจากการวัดคุณภาพของเมล็ดกาแฟที่ผ่านการคั่ว และนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตเพื่อเพิ่มคุณภาพ ลดต้นทุนและเวลาการผลิต รวมทั้งเป็นการเพิ่มมูลค่าของเมล็ดกาแฟอาราบิก้า นอกจากนี้ยังค้นคว้าเทคโนโลยีใหม่ในการหมักกาแฟอาราบิก้าภายในภาวะแอนแอโรบิก พร้อมทั้งพัฒนาเครื่องต้นแบบช่วยหมักกาแฟอาราบิก้าและนำผลิตผลพลอยได้จากการหมักไปใช้ประโยชน์ เน้นการจัดการการผลิตแบบ Zero-waste process หรือการจัดการการผลิตที่ไม่มีของเสียออกจากระบวนการผลิต โดยมุ่งเน้นการนำไปใช้ประโยชน์จากการสกัดสารสำคัญและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารและการเกษตร

นิยามศัพท์

กาแฟ	เป็นผลิตผลที่ได้มาจากต้นไม้ชื่อ คอฟฟีอา อะราบีกา (Coffea Arabica) และ คอฟฟิอา คะเนฟอรา โดยการทดลองจะพูดถึงกาแฟทางการค้า 2 ชนิดได้แก่ กาแฟอะราบิกาและโรบัสต้า
เกษตรกร	ผู้ที่ประกอบอาชีพในการทำนา ทำไร่ ทำสวน หรือเลี้ยงสัตว์ ในปี พ.ศ. 2554
จุลินทรีย์	สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กมาก มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น ต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ส่วนมากมีเซลล์เดียว.
ชะมด	เป็นชื่อสามัญที่ใช้เรียกสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ในอันดับสัตว์กินเนื้อจำพวกหนึ่ง ที่อยู่ในวงศ์ Viverridae
อัตลักษณ์	ผลรวมของลักษณะเฉพาะของสิ่งใดสิ่งหนึ่งซึ่งทำให้สิ่งนั้นเป็นที่รู้จักหรือจำได้

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน

1.วิธีการดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1 การใช้ผลิตผลพลอยได้จากเปลือกหุ้มเมล็ดและเมือกกาแฟ

-อุปกรณ์

1.วัสดุทดลอง

1.1 กาแฟ สายพันธุ์ *Coffea arabica cv. Chiangmai 80* ชั่วที่ 7 ที่เป็นสายพันธุ์กาแฟแนะนำ ปรับปรุงพันธุ์ในประเทศไทยจากภาคเหนือและศูนย์วิจัยเกษตรหลวง จังหวัดเชียงใหม่

1.2 เชื้อจุลินทรีย์ *Saccharomyces spp.* Strain *BAwine* คัดเลือกโดยกรมวิชาการเกษตร

1.3 ตัวกรองสาร Semi-phase microextraction (SPME) ในการสกัดขั้นตอน liquid-liquid extraction ตามคู่มือ Visiprep (Supelco) โดยเปรียบเทียบระหว่าง ตัวกรอง Semi-phase extraction (SPE) C18 silicate (ENVI-18, 0.5g, 6ml) และ Copolymer Styrene-divinylbenzene (PS-DVB, Bond Elut PPL, 0.2g, 3 ml) โดยใช้ตัวทำละลายเดียวกับสารสกัดโดยใช้ความเร็วในการบีบผ่านตัวกรอง 0.5 $mL.min^{-1}$

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีเพื่อใช้ในการทดสอบการหมัก ได้แก่

(1) Tartaric Acid

(2) Diammonium sulfate

2.1 สารเคมีเพื่อใช้เตรียมสารละลายมาตรฐานโดยใช้น้ำ Demineralize ในการทำละลาย เตรียมที่ความเข้มข้น 10 $mg.L^{-1}$ เก็บในขวดทึบเพื่อป้องกันแสงและเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 สัปดาห์ คือ

(3) Lactic acid

3. เครื่องมือ

3.1 High Performance Liquid Chromatography – Ultraviolet ที่มีปั๊มแปรผันแรงดันต่ำ(ยี่ห้อ Shimadzu LC-6A), หัวฉีดชนิด Manual injection ที่แบ่งปริมาณฉีดที่ 20 ไมโครลิตร, การ์ดคอลัมน์ชนิด C18 Silica, คอลัมน์ชนิด C18 Silica (EnviroSep-PP-PAH (EPA Method 610) 125 x 4.6 mm), ตัวตรวจจับสัญญาณชนิด DAD (Shimadzu SPD-SAV),เครื่องแปรผล (รุ่น SPD-SAV) และโปรแกรมแปรผล (LCanalysis), ความเร็วของ Mobile Phase ที่ 0.8 $mL.min^{-1}$ และใช้เวลาในการวิเคราะห์ 30 นาที

3.2 Gas Chromatography – Mass spectrometry ที่มีปั๊มแปรผันแรงดันต่ำ (ยี่ห้อ Perkins Elmers), หัวฉีดชนิด Manual injection ที่แบ่งปริมาณฉีดที่ 20 ไมโครลิตร, คอลัมน์ชนิด 5MS Elite (EnviroSep-PP-PAH (EPA Method 610) 125 x 4.6 mm), ตัวตรวจจับสัญญาณชนิด MS (Shimadzu), เครื่องแปรผล (รุ่น SPD-SAV) และโปรแกรมแปรผล (MS analyser), ความเร็วของ Mobile Phase ที่ 0.8 $mL.min^{-1}$ และใช้เวลาในการวิเคราะห์ 30 นาที เพื่อตรวจยืนยันสารให้กลิ่นในกาแฟจากการหมัก

3.3 เครื่อง Spectroscopy Ultraviolet

3.4 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ Bioreacter ยี่ห้อ Infors HT ที่มีโปรแกรมควบคุม Eve

3.5 เครื่องวิเคราะห์จมูกอิเล็กทรอนิกส์ รุ่น E251 พัฒนาโดยบริษัทเดโก้ประเทศไทย ปี 255

3.6 เครื่องวัดความขุ่น

3.7 เครื่องวัดปริมาณน้ำตาล

กรมวิชาการเกษตร

3.8 เครื่องมือแปรรูป ได้แก่ เครื่องคั่วกาแฟ เครื่องชงกาแฟแบบแรงดันสูง อุปกรณ์ทดสอบชิม

4. **กลิ่นมาตรฐาน** Scent of Wine (Nez du cafe) จากบริษัท Aromes de VIN ประกอบไปด้วย 54 กลิ่นหลักในกาแฟเพื่อใช้ในการฝึกและทดสอบ Cup tasting

-วิธีการ

ประเมินคุณภาพของเสียที่ได้จากกระบวนการหมักกาแฟโดยเฉพาะอย่างยิ่งเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟ (Coffee husk) เมือกกาแฟ และน้ำเสียที่ใช้ในการหมักกาแฟเกี่ยวกับส่วนประกอบและสารพิษตกค้าง

ขั้นตอนที่ 1 การนำเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟไปใช้ประโยชน์ (ดำเนินการในปีงบประมาณ 2562 - 63)

ศึกษาคุณภาพและคุณสมบัติของเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟโดยการวิเคราะห์ทางกายภาพและส่วนประกอบทางเคมี ปริมาณสาระสำคัญ ศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งศัตรูพืช (Biofungicide) ในรูปแบบสารสกัดเอทานอลจากเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟ ทดสอบคุณสมบัติการเกิด Clear-zone ในการยับยั้งเชื้อราจากสารสกัดและศึกษาการผลิตกรดซิตริกจากเปลือกหุ้มเมล็ดโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ *Streptococcus spp.*จากนั้นทดลองผลิตสารสำคัญที่ได้จากเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟและนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารในอาหารประเภทเบเกอรี่และเครื่องดื่มเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด

ขั้นตอนที่ 2 การนำเมือกกาแฟไปใช้ประโยชน์ (ปี 2563 -2564)

1. นำเมือกกาแฟและเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟมาสกัดเพคตินเพื่อจำแนกชนิดและการนำไปใช้ประโยชน์โดยการศึกษา Degree of esterification (DE%) เพื่อจำแนกชนิด ปริมาณกรดกาแลคทูโลนิค ความหนืด การคงตัวและภาวะการก่อเจล
2. ทดลองนำเพคตินจากการสกัดจากน้ำหมักกาแฟไปใช้ในการทดสอบการเคลือบผิวส้ม

2.1. การเตรียมผลส้มเพื่อทดสอบการเคลือบ โดยนำส้มมาล้างที่น้ำสะอาดและน้ำผสมโซเดี่ยมไฮโปครอไรท์ร้อยละ 0.02 เพื่อทำความสะอาดและผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

2.2. การเตรียมสารเคลือบตามวิธีของ Moalemiyan,2010 ใช้เพคตินสกัดละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เวลา 18 ชั่วโมงผสมซอลบิทอลปริมาณ 6.75 กรัมคนผสมและอุ่นบีแวกซ์ปริมาณ 6 กรัม และโมโนกลีเซอไรท์ 1.8 กรัมใช้เครื่องผสมอัตโนมัติ (homogenizer PowerGen700) ที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm เวลา 4 นาที และลดอุณหภูมิจนเหลือที่ 37±2 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารเคลือบปริมาตร 0.8 มิลลิลิตรมาทาเคลือบส้มและตากให้แห้งที่อุณหภูมิห้องเวลาไม่น้อยกว่า 1 ชั่วโมงและแพ็คในถุงพลาสติกเพื่อทดสอบการเคลือบผิวส้มในเวลาเก็บรักษา 30 วัน

แผนการทดลอง ออกแบบการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 กรรมวิธี 3 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่เพคตินสกัด
กรรมวิธีที่ 2 เติมเพคตินสกัดปริมาณ 3% ของส่วนผสม
กรรมวิธีที่ 3 เติมเพคตินสกัดปริมาณ 5% ของส่วนผสม
กรรมวิธีที่ 4 เติมเพคตินทางการค้าปริมาณ 3% ของส่วนผสม
กรรมวิธีที่ 5 เติมเพคตินทางการค้าปริมาณ 5% ของส่วนผสม

การบันทึกข้อมูล ลักษณะปรากฏ, กลิ่น, รสชาติ, น้ำหนักที่หายไป (Wight loss), สี(L*,a,b), ความแน่นเนื้อ(Firmness), ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total Soluble Solid), ปริมาณกรดทั้งหมด (Total Acids), ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ขั้นตอนที่ 3 การใช้ประโยชน์จากน้ำหมักกาแฟ (ปี 2564)

กรมวิชาการเกษตร

1. ทดสอบคุณภาพน้ำหมักกาแฟจากการหมักสารกาแฟปริมาณไม่น้อยกว่า 50 กิโลกรัมเชอร์รี่กาแฟ โดยกระบวนการ AAF Techniques (ผลการทดลองจากการทดลองการหมักกาแฟโดยจุลินทรีย์) โดยใช้การหมักสารกาแฟโดยจุลินทรีย์ *S. cerevisiae* strain BAwine และทดสอบการใช้น้ำหมักซ้ำ

แผนการทดลอง ออกแบบการทดลองแบบ CRD 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 หมักกาแฟโดยปกติ

กรรมวิธีที่ 2 หมักกาแฟโดยการใช้น้ำหมักกาแฟซ้ำจำนวน 1 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 3 หมักกาแฟโดยการใช้น้ำหมักกาแฟซ้ำจำนวน 2 ครั้ง

กรรมวิธีที่ 4 หมักกาแฟโดยการใช้น้ำหมักกาแฟซ้ำจำนวน 3 ครั้ง

การบันทึกข้อมูล ค่าความขุ่น (Turbidity), ปริมาณกรดทั้งหมด (Total Acids), ความเป็นกรด-ด่าง (pH), ปริมาณกรดแลคติก, คุณภาพของกาแฟและค่า COD และ BOD ของน้ำหมักกาแฟ ตรวจสอบคุณภาพกาแฟที่ได้จากการทดสอบการหมักซ้ำของแต่ละกรรมวิธี

2.นำตะกอนและน้ำเสียที่เหลือไปทดสอบเพื่อทำการบำบัดน้ำเสียและตรวจสอบคุณภาพน้ำก่อนทิ้งในแหล่งน้ำตามธรรมชาติโดยการตกตะกอนและบำบัดโดยพืช โดยทดสอบระบบบำบัดขนาด 21 ลิตรและติดตามคุณภาพบำบัดน้ำหมักในระดับห้องปฏิบัติการ

2.1 ออกแบบระบบบำบัดน้ำหมักกกาแฟโดยตรวจสอบคุณภาพน้ำหมักกาแฟเปรียบเทียบกับมาตรฐานน้ำปล่อยจากโรงงานผลิตอาหารของกรมโรงงานอุตสาหกรรม (ISI standard)

2.2 ดัดแปลงระบบบำบัดน้ำเสียตาม ไพฑูรย์, 2535 จำนวน 5 ขั้นตอนได้แก่ (1.) บ่อรวบรวมน้ำหมักเพื่อบำบัด (Sump tank), บ่อตกตะกอน (Sediment tank), บ่อกรอง (Filtration tank), บ่อเติมอากาศ (Aerated tank) และบ่อพืชบำบัด (Wetland tank)

3 ทดสอบขยายดัดแปลงบ่อพืชบำบัดโดยคัดเลือกพืชบำบัดในพื้นที่ทดสอบจริงโดยขยายกำลังการบำบัดขนาดไม่น้อยกว่า 100 ลิตร

3.1 ดัดแปลงระบบบำบัดจำนวน 5 ขั้นตอนได้แก่ (1.) บ่อรวบรวมน้ำหมักเพื่อบำบัด (Sump tank), บ่อตกตะกอน (Sediment tank), บ่อกรอง (Filtration tank), บ่อเติมอากาศ (Aerated tank) และบ่อพืชบำบัด (Wetland tank) และคัดเลือกพืชท้องถิ่นเพื่อบำบัดเปรียบเทียบกับระบบการบำบัดโดยการปล่อยลงดิน

แผนการทดลอง ออกแบบการทดลองแบบ CRD 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยน้ำลงพื้นดินโดยหลักการซึมผ่าน (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 ใช้พืชบำบัด ชนิดธูปฤาษีปลูกในพื้นที่ ขนาด 10 x 10 ตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 3 ใช้พืชบำบัด ชนิดพุทธรักษาปลูกในพื้นที่ ขนาด 10 x 10 ตารางเมตร

การบันทึกข้อมูล ค่าความขุ่น (Turbidity), ปริมาณกรดทั้งหมด (Total Acids), ความเป็นกรด-ด่าง (pH), ปริมาณกรดแลคติก, คุณภาพของกาแฟและค่า COD และ BOD ของน้ำหมักกาแฟ ตรวจสอบคุณภาพน้ำหมักที่ได้จากแต่ละกรรมวิธีเปรียบเทียบกับมาตรฐานกรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2535

3. สรุปผลการทดลองเปรียบเทียบกับวิธีปกติที่เกษตรกรดำเนินการกับน้ำหมัก คำนวณต้นทุนการทดลอง ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและถ่ายทอดผลงาน

ระยะเวลาดำเนินการ ตุลาคม 2563 - กันยายน 2564

สถานที่ทดลอง

ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่, ศูนย์วิจัยพืชสวนวาวี(เชียงราย),

กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

การทดลองที่ 2 การศึกษาการหมักกาแฟโดยจำลองแบบระบบย่อยอาหารของสัตว์

อุปกรณ์

1. กาแฟ สายพันธุ์ *Coffea Arabica L cv. Catimor*
2. เครื่องวัดความขุ่น (LUTRON, TU-2016)
3. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (LUTRON, PH-230SD)
4. เครื่องวัดความชื้น (KETT, PM-450)
5. เครื่องวัดสีกาแฟคั่ว (ROAMI, TRA-300)
6. เครื่องวัดความหวานในกาแฟ (ATAGO, PAL-Coffee (BX/TDS))
7. เครื่องสเปกโตรโฟรโตมิเตอร์ (Hitachi, U5100)
8. เครื่องคั่วกาแฟ (Coffee Pro Direct, Sample pro-100)
9. เครื่องทดสอบกลิ่น (Gas Chromatography – Olfactory spectrometry, Perkin)
10. เครื่องแก้วและถังสำหรับหมักกาแฟ
11. อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์
12. สารเคมี ได้แก่ Hydrochoric acid, เอนไซม์เปปซิน, เอนไซม์จากตับอ่อน (Pancreatin)

วิธีการ

1. ทดสอบการหมักกาแฟด้วยการผสมเอนไซม์และจุลินทรีย์จากลำไส้สัตว์ในขวดหมัก

1.1 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากขี้ชะมดโดยเลี้ยงเชื้อยีสต์บนอาหารแข็ง Yeast-Malt agar (YM) เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหารแข็ง Nutrient agar และเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแลคติกบนอาหารแข็ง MRS agar บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 24-48 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อบนอาหารแข็งลงในขวดที่บรรจุน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปรับค่า optical density (OD) ที่ 600 นาโนเมตร ให้มีค่าเท่ากับ 1 เพื่อใช้สำหรับการทดสอบการหมัก

1.2 ทดสอบการหมักกาแฟในขวดหมัก

นำผลมากาแฟสุกมาแช่น้ำ ทำการลอกส่วนเปลือกนอกออก คัดเลือกเมล็ดเสียและ เมล็ดที่ลอยน้ำออก ล้างเมล็ดกาแฟด้วยน้ำสะอาด บรรจุเมล็ดกาแฟลงในขวดหมักที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จำนวน 500 กรัม ทำการหมัก 2 วิธีคือ ไม่เติมจุลินทรีย์ (หมักแบบธรรมชาติ), เติมจุลินทรีย์ผสมที่แยกจากกาแฟขี้ชะมดและเอนไซม์จากตับอ่อน (Pancreatin)

ทำการทดสอบ จำนวน 2 กรรมวิธี 10 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ไม่เติมจุลินทรีย์ (หมักแบบธรรมชาติ)

กรรมวิธีที่ 2 เติมจุลินทรีย์ที่แยกจากกาแฟขี้ชะมดในและเอนไซม์จากตับอ่อน (Pancreatin)

จากนั้นนำขวดหมักที่บรรจุเมล็ดกาแฟมาเติมน้ำกลั่นปริมาตร 400 มิลลิลิตร ปิดฝา บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง

1.3 ตรวจสอบคุณภาพกาแฟโดยใช้การคั่วเมล็ดกาแฟแบบคั่วกลาง หลังจากหมักเสร็จแล้วล้างเมล็กาแฟด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำไปตากแดด ประมาณ 3-4 วัน คอยพลิกกลับเมล็ดจนเมล็ดแห้ง สุ่มตัวอย่างไปวัดความชื้นให้มีเหลือประมาณไม่เกิน 12 % นำไปสีเปลือกกาแฟออกทำการบรรจุเก็บ ในถุงพลาสติกสุญญากาศนำเมล็ดกาแฟที่ผ่านการสีเปลือกออกแล้ว มาคั่วด้วยเครื่องคั่วเมล็ดกาแฟ โดยทำการคั่วในระดับปานกลาง (medium roast) ใช้เวลาการคั่วประมาณ 8-9 นาที เมื่อคั่วเสร็จแล้วจะได้เมล็ดกาแฟคั่วที่มีสีน้ำตาลดำ เมล็ดกาแฟที่ผ่านการคั่วใส่ถุงพลาสติกสุญญากาศ นำตัวอย่างเมล็ดกาแฟคั่วไปตรวจสอบคุณภาพกลิ่นรส

กรมวิชาการเกษตร

ของกาแฟที่หมักโดยการทดสอบการชิม (Cupping) ทำการวิเคราะห์ด้าน กายภาพ วิเคราะห์ด้านเคมี และการวิเคราะห์ปริมาณสาระสำคัญที่ให้กลิ่นในกาแฟ

2. ทดสอบปัจจัยที่มีผลต่อการหมักกาแฟจำลองระบบย่อยอาหารของสัตว์

2.1 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากขี้ชะมดโดยเลี้ยงเชื้อยีสต์บนอาหารแข็ง Yeast-Malt agar (YM) เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหารแข็ง Nutrient agar และเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแลคติกบนอาหารแข็ง MRS agar บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 24-48 ชั่วโมง เชี่ยเชื้อบนอาหารแข็งลงในขวดที่บรรจุน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ปรับค่า optical density (OD) ที่ 600 นาโนเมตร ให้มีค่าเท่ากับ 1 เพื่อใช้สำหรับการทดสอบการหมัก

2.2 ทดสอบปัจจัยที่มีผลต่อการหมักกาแฟจำลองระบบย่อยอาหารของสัตว์ในขวดหมัก

2.2.1 ศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในการหมักกาแฟจำลองระบบย่อยอาหารของสัตว์

แผนการทดลอง ออกแบบการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่ปรับความเป็นกรด-ด่าง)

กรรมวิธีที่ 2 ปรับความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 2 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก

กรรมวิธีที่ 3 ปรับความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 4 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก

นำผลมากาแฟสุกมาแช่น้ำ ทำการลอกส่วนเปลือกนอกออก คัดเลือกเมล็ดเสียและเมล็ดที่ลอยน้ำออก ล้างเมล็ดกาแฟด้วยน้ำสะอาด บรรจุเมล็ดกาแฟลงในขวดหมักที่ผ่านการฆ่าเชื้อจำนวน 500 กรัม จากนั้นนำขวดหมักที่บรรจุเมล็ดกาแฟมาเติมน้ำกลั่นปริมาตร 400 มิลลิลิตร เติมจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่ได้จากข้อ 1 ทำการหมัก 3 วิธีคือ ชุดควบคุม (ไม่ปรับความเป็นกรด-ด่าง), ปรับความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 2 และปรับความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 4 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก หลังจากนั้นปิดฝาขวดหมัก บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง ตรวจสอบคุณภาพกลิ่นรสของกาแฟที่หมักโดยการทดสอบการชิม (Cupping)

2.2.3 ศึกษาผลของเวลาในการหมักกาแฟจำลองระบบย่อยอาหารของสัตว์

แผนการทดลอง ออกแบบการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 หมักกาแฟนาน 20 ชั่วโมง (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 หมักกาแฟนาน 18 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 3 หมักกาแฟนาน 24 ชั่วโมง

นำผลมากาแฟสุกมาแช่น้ำ ทำการลอกส่วนเปลือกนอกออก คัดเลือกเมล็ดเสียและเมล็ดที่ลอยน้ำออก ล้างเมล็ดกาแฟด้วยน้ำสะอาด บรรจุเมล็ดกาแฟลงในขวดหมักที่ผ่านการฆ่าเชื้อจำนวน 500 กรัม จากนั้นนำขวดหมักที่บรรจุเมล็ดกาแฟมาเติมน้ำกลั่นปริมาตร 400 มิลลิลิตร เติมจุลินทรีย์และเอนไซม์เปปซิน และ หลังจากนั้นปิดฝาขวด บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 20, 18 และ 24 ชั่วโมง ตรวจสอบคุณภาพกลิ่นรสของกาแฟที่หมักโดยการทดสอบการชิม (Cupping)

2.3 ทดสอบการหมักกาแฟจำลองระบบย่อยอาหารสัตว์ตามกรรมวิธีที่คัดเลือก

นำผลมากาแฟสุกมาแช่น้ำ ทำการลอกส่วนเปลือกนอกออก คัดเลือกเมล็ดเสียและเมล็ดที่ลอยน้ำออก ล้างเมล็ดกาแฟด้วยน้ำสะอาด บรรจุเมล็ดกาแฟจำนวน 2000 กรัม ลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพทำการหมักโดยใช้จุลินทรีย์เอนไซม์ ความเป็นกรด-ด่างและเวลา ตามกรรมวิธีที่คัดเลือก หลังจากหยุดการหมักแล้วนำไปตรวจสอบคุณภาพกลิ่นรสของกาแฟที่หมักโดยการทดสอบการชิม (Cupping)

2.4 ตรวจสอบคุณภาพกลิ่นรสของกาแฟที่หมักเปรียบเทียบกับกาแฟขี้ชะมด

กรมวิชาการเกษตร

ตรวจสอบคุณภาพกาแฟโดยใช้การคั่วเมล็ดกาแฟแบบคั่วกลาง หลังจากหมักเสร็จแล้วล้างเมล็ดกาแฟด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำไปตากแดด ประมาณ 3-4 วัน คอยพลิกกลับเมล็ดจนเมล็ดแห้ง สุ่มตัวอย่างไปวัดความชื้นให้มีเหลือประมาณไม่เกิน 12 % นำไปสีเปลือกกาแฟออกทำการบรรจุเก็บ ในถุงพลาสติกสุญญากาศนำเมล็ดกาแฟที่ผ่านการสีเปลือกออกแล้ว มาคั่วด้วยเครื่องคั่วเมล็ดกาแฟ โดยทำการคั่วในระดับปานกลาง (medium roast) ใช้เวลาการคั่วประมาณ 8-9 นาที เมื่อคั่วเสร็จแล้วจะได้เมล็ดกาแฟคั่วที่มีสีน้ำตาลดำ เมล็ดกาแฟที่ผ่านการคั่วใส่ถุงพลาสติกสุญญากาศ นำตัวอย่างเมล็ดกาแฟคั่วไปตรวจสอบคุณภาพกลิ่นรสของกาแฟที่หมักโดยการทดสอบการชิม (Cupping) ทำการวิเคราะห์ด้าน กายภาพ วิเคราะห์ด้านเคมี และการวิเคราะห์ปริมาณสาระสำคัญที่ให้กลิ่นในกาแฟ

3. เปรียบเทียบคุณภาพกาแฟที่ได้จากการหมักโดยจำลองระบบย่อยอาหารของสัตว์และคำนวนต้นทุนการทดลองเปรียบเทียบกับกระบวนการหมักแบบเดิม แบบใช้เครื่องจักร แบบการใช้สารเคมีและวิธีที่พัฒนามาใหม่

การทดลองที่ 3 ศึกษาอัตราส่วนสาร Cafestol และ Kahweol ในกาแฟต่อการพัฒนาคุณภาพและอัตลักษณ์กาแฟเฉพาะถิ่น

อุปกรณ์

1.วัสดุทดลอง

1.1 กาแฟ สายพันธุ์ *Coffea Arabica cv. Chiangmai 80* ชั่วที่ 7 ที่เป็นสายพันธุ์กาแฟแนะนำ ปรับปรุงพันธุ์ในประเทศไทยจากภาคเหนือและศูนย์วิจัยเกษตรหลวง จังหวัดเชียงใหม่

1.2 เชื้อจุลินทรีย์ *Saccharomyces spp.* Strain *BAwine* คัดเลือกโดยกรมวิชาการเกษตร

1.3 ตัวกรองสาร Semi-phase microextraction (SPME) ในการสกัดขั้นตอน liquid-liquid extraction ตามคู่มือ Visiprep (Supelco) โดยเปรียบเทียบระหว่าง ตัวกรอง Semi-phase extraction (SPE) C18 silicate (ENVI-18, 0.5g, 6ml) และ Copolymer Styrene-divinylbenzene (PS-DVB, Bond Elut PPL, 0.2g, 3 ml) โดยใช้ตัวทำละลายเดียวกับสารสกัด โดยใช้ความเร็วในการบีบผ่านตัวกรอง 0.5 $mL.min^{-1}$

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีเพื่อเป็นสารมาตรฐาน ได้แก่

(1) Cafestol จากบริษัท Sigma สกัดจากน้ำมันเมล็ดกาแฟ

(2) Kahweol จากบริษัท Sigma สกัดจากน้ำมันกาแฟ สารเคมีเพื่อใช้เตรียมสารละลายมาตรฐานโดยใช้น้ำ Demineralize ในการทำละลาย เตรียมที่ความเข้มข้น 10 $mg.L^{-1}$ เก็บในขวดทึบเพื่อป้องกันแสงและเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 สัปดาห์

3. เครื่องมือ

3.1 Gas Chromatography – Mass spectrometry ที่มีปั๊มแปรผันแรงดันต่ำ (ยี่ห้อ Perkins Elmers), หัวฉีดชนิด Manual injection ที่แบ่งปริมาณฉีดที่ 20 ไมโครลิตร, คอลัมน์ชนิด 5MS Elite (EnviroSep-PP-PAH (EPA Method 610) 125 x 4.6 mm), ตัวตรวจจับสัญญาณชนิด MS (Shimadzu), เครื่องแปรผล (รุ่น SPD-SAV) และโปรแกรมแปรผล (MS analyser), ความเร็วของ Mobile Phase ที่ 0.8 $mL.min^{-1}$ และใช้เวลาในการวิเคราะห์ 30 นาที เพื่อตรวจยืนยันสารให้กลิ่นในกาแฟจากการหมัก

3.2 Bioreacter ยี่ห้อ Infors HT ที่มีโปรแกรมควบคุม Eve

3.3 เครื่องวิเคราะห์จมูกอิเล็กทรอนิกส์ รุ่น E251 พัฒนาโดยบริษัทเดโก้ประเทศไทย ปี 2554

4. **กลิ่นมาตรฐาน** Scent of Wine (Nez du cafe) จากปริษัท Aromes de VIN ประกอบไปด้วย 54 กลิ่นหลักในกาแฟเพื่อใช้ในการฝึกและทดสอบ Cup tasting

-วิธีการ

กรมวิชาการเกษตร

1. พัฒนากระบวนการวิเคราะห์สารประกอบ Diterpene ในเมล็ดกาแฟสายพันธุ์ *Coffea Arabica* และ *Coffea Canephora* โดยการใช้การสกัดน้ำมันโดยดัดแปลงจากวิธี AOAC,1990 แล้วพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารสำคัญโดยใช้เครื่อง Gas-Chromatography

2. วิเคราะห์ปริมาณสาร Cafestol และสาร Kahweol ตลอดกระบวนการผลิตกาแฟจำนวน 5 ขั้นตอนตั้งแต่การเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การหมักกาแฟ การตากกาแฟ การเก็บรักษากาแฟ การคั่วกาแฟและกระบวนการชงประเมินคุณภาพกาแฟ

ขั้นตอนที่ 1 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol ระหว่างก่อนการเก็บเกี่ยวและระหว่างการเก็บเกี่ยวเชอร์รี่กาแฟ – ดำเนินการในปีงบประมาณ 2562

1. กำหนดแปลงทดลองที่ปลูกกาแฟอาราบิก้าพันธุ์เชียงใหม่ 80 ไม่น้อยกว่า 10 แปลงทดลอง และกาแฟโรบัสต้าสายพันธุ์ชุมพร 2 ไม่น้อยกว่า 5 แปลงทดลอง

2. เก็บตัวอย่างเมล็ดกาแฟหลังระยะออกดอกตามเวลาหลังติดดอกเป็นเวลา 7 – 9 เดือน โดยเก็บตัวอย่างปริมาณ 100 กรัมต่อต้น บริเวณกิ่งที่นอนที่สองที่เป็นกิ่งที่สมบูรณ์ที่สุดในของกาแฟและวิเคราะห์ปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol

3. ศึกษาปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol ในส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟโดยการวิเคราะห์ทางกายภาพและส่วนประกอบทางเคมีและการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักแบบแห้ง (Solid-state fermentation)

4. ศึกษาปริมาณสารสำคัญในเมล็ดกาแฟโดยเครื่องโครมาโตกราฟีแรงดันสูงในเปลือกหุ้มกาแฟภาวะปกติและภาวะที่เกิดจากการหมักแบบแห้ง

แผนการทดลอง ออกแบบการทดลองแบบ CRD 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์

กรรมวิธีที่ 2 เติมเชื้อจุลินทรีย์ *Aspergillus niger*

กรรมวิธีที่ 3 เติมเชื้อจุลินทรีย์ *Streptococcus spp.*

การบันทึกข้อมูล ปริมาณ Cafestol และ Kahweol, ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Glucose, Fructose), ปริมาณกรดทั้งหมด (Total Acids), ความเป็นกรด-ด่าง(pH), ปริมาณสารแทนนิน, ปริมาณกรดครอโรเจนิค

ขั้นตอนที่ 2 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol ระหว่างกระบวนการหมักย่อยเมือกกาแฟ – ดำเนินการในปีงบประมาณ 2563

1. ศึกษาปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol ในส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟโดยการวิเคราะห์ทางกายภาพและส่วนประกอบทางเคมีและการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักแบบแห้ง (Solid-state fermentation)

2. ศึกษาปริมาณสารสำคัญในเมล็ดกาแฟโดยเครื่องโครมาโตกราฟีแรงดันสูงในเปลือกหุ้มกาแฟภาวะปกติและภาวะที่เกิดจากการหมักโดยศึกษาการผลิตกรดปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol จากการย่อยเปลือกหุ้มเมล็ดโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ *BAwine*

แผนการทดลอง ออกแบบการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม ไม่เติมหัวเชื้อ

กรรมวิธีที่ 2 ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ *BAwine* ร้อยละ 2

กรรมวิธีที่ 3 ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ *Pro-Y15* ร้อยละ 2

จากนั้นนำขวดหมักที่บรรจุเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟมาเติมน้ำกลั่นปริมาตร 400 มิลลิลิตร ปิดฝา ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อเริ่มทำการหมัก ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมงเพื่อนำมาทำการวิเคราะห์ผล

กรมวิชาการเกษตร

การบันทึกข้อมูลปริมาณ Cafestol และ Kahweol,ปริมาณกรดซิตริก, ปริมาณกรดทั้งหมด (Total Acids),ความเป็นกรด-ด่าง (pH)และการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

ขั้นตอนที่ 3 การตากและการเก็บรักษากาแฟ – ดำเนินการในปีงบประมาณ 2563-64

1. แบ่งสารกาแฟในการตากโดยการสุ่มเมล็ดกาแฟมาอย่างน้อยแปลงทดลองละ 300 กรัม และระหว่างการเก็บรักษาทุกสัปดาห์ตลอดเวลาการเก็บรักษาความชื้นไม่เกินร้อยละ 50 โดยเก็บตัวอย่างกาแฟเพื่อวิเคราะห์ตัวอย่างทุกเดือนเป็นเวลา 10 เดือน (กันยายน 2563 ถึงเดือนมิถุนายน 2564)

แผนการทดลอง ออกแบบการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม เมล็ดกาแฟเก็บในกระสอบป่าน

กรรมวิธีที่ 2 เก็บในถุง ซุปเปอร์ Grain Pro (HDPE)

กรรมวิธีที่ 3 เก็บในถุง PP

กรรมวิธีที่ 4 เก็บในถุง PE

กรรมวิธีที่ 5 เก็บในถุง HDPE

กรรมวิธีที่ 6 เก็บในกล่องกระดาษหุ้มฟลอย

2. ศึกษาปริมาณสารสำคัญในเมล็ดกาแฟโดยเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟฟีแรงดันสูงในเปลือกหุ้มกาแฟภาวะปกติและภาวะที่เกิดจากการหมักโดยศึกษาการผลิตกรดปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol

การบันทึกข้อมูลปริมาณ Cafestol และ Kahweol, ปริมาณกรดซิตริก, ปริมาณกรดทั้งหมด (Total Acids),ความเป็นกรด-ด่าง (pH)และการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และผลของการ Cupping ของเมล็ดกาแฟ

ขั้นตอนที่ 4การคั่วกาแฟ (Roasting coffee test) – ดำเนินการในปีงบประมาณ 2563-64

1. ศึกษาคุณภาพเมล็ดกาแฟบ่มเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 10 เดือนในภาชนะที่บรรจุตามกรรมวิธีที่ได้ผลดีที่สุดในขั้นตอนที่ 3 ฐเพื่อนำมาศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารสำคัญโดยการเลือกการคั่วกลางแบบ Full-city Roast (อุณหภูมิไม่เกิน 240 องศาเซลเซียสเวลา 16 นาที) เพื่อลดการเกิดสารกลุ่ม Polycyclic Aromatic Hydrocarbon ที่เป็นสารพิษในการผลิตกาแฟคั่ว

2. ศึกษาปริมาณสารสำคัญในเมล็ดกาแฟโดยเครื่องโครมาโตกราฟีแรงดันสูงในเปลือกหุ้มกาแฟภาวะปกติและภาวะที่เกิดจากการหมักโดยศึกษาการผลิตกรดปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol

แผนการทดลอง ออกแบบการทดลองแบบ CRD จำนวน 6 กรรมวิธี 3 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 สารกาแฟไม่คั่ว (under-roast)

กรรมวิธีที่ 2 คั่วโดยวิธีปกติที่อุณหภูมิ 240 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที (ก่อน first crack)

กรรมวิธีที่ 3 คั่วโดยวิธีปกติที่อุณหภูมิ 240 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที (จบที่ first crack)

กรรมวิธีที่ 4 คั่วโดยวิธีปกติที่อุณหภูมิ 240 องศาเซลเซียส เวลา 12 นาที (ก่อน second crack)

กรรมวิธีที่ 5 คั่วโดยวิธีปกติที่อุณหภูมิ 240 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที (หลัง second crack)

กรรมวิธีที่ 6คั่วโดยวิธีปกติที่อุณหภูมิ 240 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที (over-roast)

การบันทึกข้อมูลปริมาณ Cafestol และ Kahweol, ลักษณะปรากฏ,กลิ่น, รสชาติ, ปริมาณกรดทั้งหมด (Total Acids),ความเป็นกรด-ด่าง (pH)และคุณค่าทางโภชนาการและกลิ่นที่ได้จากการคั่ว

ขั้นตอนที่ 5การชงกาแฟ (Espresso cupping test) – ดำเนินการในปีงบประมาณ 2564

1. ศึกษาคุณภาพกาแฟบ่มที่ระยะเวลาไม่น้อยกว่า 10 เดือนโดยใช้บรรจุภัณฑ์ที่ให้ผลดีในขั้นตอนที่ 3 และคั่วที่ให้ผลที่ดีที่สุดในขั้นตอนที่ 4 เพื่อนำมาศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารสำคัญ (อุณหภูมิไม่เกิน 240 องศาเซลเซียส

กรมวิชาการเกษตร

เวลา 16 นาที) เพื่อลดการเกิดสารกลุ่ม Polycyclic Aromatic Hydrocarbon ที่เป็นสารพิษในการผลิตกาแฟคั่ว และการพัฒนา Perfect Cupping โดยการทดสอบ Espresso Cupping

2. ศึกษาปริมาณสารสำคัญในเมล็ดกาแฟโดยเครื่องโครมาโตกราฟีแรงดันสูงในเปลือกหุ้มกาแฟภาวะปกติและภาวะที่เกิดจากการหมักโดยศึกษาการผลิตกรดปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol

แผนการทดลอง ออกแบบการทดลองแบบ CRD จำนวน 7 กรรมวิธี 3 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 กาแฟคั่วบดไม่ผ่านการชง Espresso

กรรมวิธีที่ 2 กาแฟชงแบบ Espresso ปริมาณ 9 กรัมปล่อยเวลา 5 วินาที

กรรมวิธีที่ 3 กาแฟชงแบบ Espresso ปริมาณ 9 กรัมปล่อยเวลา 10 วินาที

กรรมวิธีที่ 4 กาแฟชงแบบ Espresso ปริมาณ 9 กรัมปล่อยเวลา 15 วินาที

กรรมวิธีที่ 5 กาแฟชงแบบ Espresso ปริมาณ 9 กรัมปล่อยเวลา 20 วินาที

กรรมวิธีที่ 6 กาแฟชงแบบ Espresso ปริมาณ 9 กรัมปล่อยเวลา 25 วินาที

กรรมวิธีที่ 7 กาแฟชงแบบ Espresso ปริมาณ 9 กรัมปล่อยเวลา 30 วินาที

การบันทึกข้อมูลปริมาณ Cafestol และ Kahweol, ลักษณะปรากฏ,กลิ่น, รสชาติ, ปริมาณกรดทั้งหมด (Total Acids),ความเป็นกรด-ด่าง (pH)และคุณค่าทางโภชนาการและกลิ่นที่ได้จากการคั่ว

5. ทดสอบการใช้องค์ความรู้ของอัตราส่วนของสาร diterpenes ในพื้นที่แปลงกาแฟพรีเมี่ยมเป็นกรณีศึกษาจำนวน 7 จังหวัดในสถานที่ทดลองและแปลงกาแฟเกษตรกรพรีเมี่ยมเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารสำคัญในพื้นที่จริง ตรวจสอบกระบวนการผลิต จุดวิกฤตและประเมินคุณภาพกาแฟ

ระยะเวลาทดลอง ตุลาคม 2563 - กันยายน 2564

สถานที่ทดลอง ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่, ศูนย์วิจัยพืชสวนวาวี(เชียงราย),
ศูนย์วิจัยพืชสวนเขาค้อ(เพชรบูรณ์), ศูนย์วิจัยพืชสวนมูเซอ(ตาก)
ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร, ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสตูล
ศูนย์วิจัยเกษตรที่สูงเลย
กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

3. การปรับแผนงบประมาณระหว่างปี

☑ ไม่มี ❑ มี ได้รับอนุมัติเมื่อวันที่..... (โปรดแสดงหลักฐานในภาคผนวก)

❑ เปลี่ยนแปลงงบประมาณ โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง.....

❑ เปลี่ยนแปลงวัตถุประสงค์/ผลผลิต โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง.....

บทที่ 3 ผลการศึกษา

3.1 ผลการดำเนินงานของโครงการ

การทดลองที่ 1 การใช้ผลิตผลพลอยได้จากเปลือกหุ้มเมล็ดและเมือกกาแฟ

1. ผลการประเมินคุณภาพผลิตผลพลอยได้จากกระบวนการหมักกาแฟ ผลพลอยได้จากกระบวนการหมักกาแฟจนถึงกระบวนการตากกาแฟแบ่งออกเป็น 3 ผลผลิตได้แก่

1.1 เปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟ (Cherry)

ผลการศึกษาคุณภาพของเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟตาม Table 1 ที่มีปริมาณร้อยละ 60 ของผลผลิตกาแฟพบว่ามีปริมาณของสารประกอบไนโตรเจนมากถึงร้อยละ 31.30 ตามด้วยปริมาณ Crude fiber ร้อยละ 21.40 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 12.40 โปรตีนร้อยละ 10.10 แทนนิน 7.80 และสารประกอบอื่นๆ ร้อยละ 17 ซึ่งสามารถนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารโดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ปรุงรสเนื่องจากสารกลุ่มไนโตรเจนที่มีอยู่มากตอบสนองดีต่อการหมัก และสารแทนนินและ Reducing Sugar สามารถนำไปพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ในแปลงทดสอบได้

Table 1 Average ratio of composition of coffee pulp in Thai Coffee

Contents	*Proportions (%)*
Nitrogen-free extract	31.30
Crude fiber	21.40
Reducing sugars	12.40
Crude protein	10.10
Tannins	7.80
Pectin substances	6.50
Chlorogenic acid	2.60
Caffeine	2.30
Others	5.60

1.2 เมือกกาแฟ (Mucilage)

ผลการศึกษาเมือกกาแฟที่ได้จากการหมักโดยมีปริมาณเพียงร้อยละ 10 ของเมล็ดกาแฟพบว่าตาม Table2 มีปริมาณน้ำที่สูงพบว่ามีน้ำเป็นส่วนประกอบถึงร้อยละ 84.20 และโปรตีนร้อยละ 8.00 และสารประกอบอื่นร้อยละ 7.8 โดยพบว่าสามารถนำเมือกกาแฟไปใช้ประโยชน์ได้หลายรูปแบบโดยเฉพาะปริมาณโปรตีนละน้ำตาลที่เหลือในเมือกกาแฟสามารถพัฒนาเป็นสารเคลือบผลไม้ได้เพราะมีสารเพคตินเป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้ยังสามารถนำกากใยไปพัฒนาเป็นสารสกัดมูลค่าสูงได้เพราะมีโปรตีน

Table 2 Average ratio of composition of coffee mucilage in Thai Coffee

Contents	*Proportions (%)*
Water	84.20
Pectin	1.00
Protein and Others	14.80

กรมวิชาการเกษตร

1.3 น้ำเสียจากการหมักกาแฟ (Waste water)

ผลการวิเคราะห์ Table 3 พบปริมาณน้ำที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปกาแฟจากการสีเปลือก หมักและล้างเมล็ดกาแฟมีปริมาณมากโดยปริมาณกาแฟ 49 กรัมจะใช้น้ำในการแปรรูปที่ 1 ลิตร ซึ่งหากผลิตกาแฟ 1 ตันจะใช้น้ำในการแปรรูปสูงถึง 20,408 ลิตร โดยเมื่อนำน้ำที่ใช้ในการหมักกาแฟมาตรวจคุณภาพพบว่าค่าความเป็นกรดด่างอยู่ที่ 4.27 – 4.40 ค่า COD อยู่ที่ 9,270 – 14,800 ค่า BOD อยู่ที่ 472 – 551 โดยพบว่าในน้ำเสียจากการหมักกาแฟนั้นเมื่อเทียบกับมาตรฐานของ ISI standards พบว่าจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ดีและน้ำดังกล่าวจะเน่าเสียได้ง่าย แต่อย่างไรก็ตามยังพบสารประกอบสำคัญมากมายได้แก่ Unrefined pectin ที่มีปริมาณ dietary fiber สูง หรือสารสำคัญจาก antioxidant กลุ่ม flavonoids ที่เกิดจากกระบวนการ deesterified ของเมือกกาแฟดังนั้นการเก็บน้ำหมักผสมกับเมือกจึงเป็นกระบวนการที่เหมาะสมในการนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ได้

Table 3 Average ratio of characteristics of coffee fermented wastewater

Parameter	*Value*
pH	4.27 – 4.40
COD, mg/ml	9,270 – 14,800
BOD @ 27 C, mg/L	427 - 551
Ammonia nitrogen, mg/L	42 - 57
Nitrate nitrogen, mg/L	32 - 48
Phosphorus, mg/L	60 - 90

2. การนำเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟไปใช้ประโยชน์

จาก Figure 3 พบว่าสามารถนำสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟไปยับยั้งเชื้อรา พบผลการทดสอบคุณสมบัติการเกิด Clear-zone ในการยับยั้งเชื้อราจากสารสกัดโดยใช้ *Aspergillus Niger* หมักในรูปแบบ Solid state fermentation และผลการยับยั้งเชื้อราในห้องปฏิบัติการโดยการใช้สารสกัดจากเปลือกกาแฟเพียง 40% นอกจากนี้การใช้สารสกัดที่ได้จากการหมักเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟในการยับยั้งอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gleosporoides* ให้ช้าลงโดยเมื่อทดสอบในแปลงทดสอบตาม Figure 4 ที่ความเข้มข้น 40 % สามารถยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรคโนสได้ควบคุมที่ร้อยละ 83.33 จากกลุ่มตัวอย่าง 30 ต้น (30:30) โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01 (p-value <0.01)

Control 40% of Coffee Cherry extract

Figure 3 Growth of *Colletotrichum gleosporoides* in control compared to 40% CPE (Cherry Pod Extract) in NA for 30 days of experiment

กรมวิชาการเกษตร

Using CPE (Cherry Pod Extract) 40%

Not application

Figure 4 Application on nursery for young coffee plant (butterfly state) using 40% of CPE and control replication with in prior infected by Colletotrichum gleosporoides

Fresh Cherry pod

Dry Cherry pod

Grind Cherry pod (GCP)

Figure 5 Cherry pod transformation for on-purpose utilization on food products using sun-drying method (14 days of exposed sun-dry)

นอกจากนี้จากการทำแห้งเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟ ตาม Figure 6 โดยการใช้กระบวนการตากแห้ง (sun-dryer method) เป็นเวลา 14 วันจนความชื้นต่ำกว่า 8% และตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีสามารถนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์ปรุงรส (aromat) จากเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟในการทดสอบผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆโดยสามารถแบ่งชนิดของผง GCP ได้เป็น 3 ชนิด (Figure 5) ตามการนำไปใช้โดยผงละเอียดที่สุดคือ GCP400 ที่สามารถนำไปทำซอสปรุงรสได้ที่ความหวาน 35 องศาบริกซ์เนื่องจากมีปริมาณ Sucrose สูงโดยเมื่อผสมกับ Glucose Syrup เพื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลสามารถพัฒนาซอสปรุงรสได้, GCP600 ที่สามารถนำไปเป็นผงโรยปรุงรสอาหารได้โดยเน้นอาหารคาว โดยการปรุงแต่งรสกับสมุนไพรและธัญพืชและขนาดใหญ่สุดที่ GGCP ที่นำไปผสมกับแป้งเค้กใช้ในผลิตภัณฑ์เบเกอร์รี่โดยสามารถนำไปทดแทนแป้งสาลีได้

GCP below 400 µm

GCP between 400 - 600 µm

GCP over 600 µm

Figure 6 Cherry pod classification for on-purpose utilization separated by grind size

3. การนำเมือกกาแฟไปใช้ประโยชน์

3.1 การสกัดเพคตินจากเปลือกหุ้มและเมือกกาแฟ

ตาม Table 4 พบว่าเพคตินสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดและเมือกกาแฟมีสีน้ำตาลอ่อนโปร่งแสงซึ่งเมื่อนำไปวิเคราะห์ DE% (65.57%) พบว่าสอดคล้องกับน้ำหนัก (Equivalent Weight) 213.43 mg/mol ซึ่งถือเป็น High Methoxy Pectin (HMP) สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ โดยจากผล FTIR (Table 5) พบว่าอัตราส่วนของกรดกาแลกทูโรนิคสูงถึง 452.84 mg (79.57%) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rakitikul, 2016 อย่างไรก็ตามผลวิเคราะห์ดังกล่าวเมื่อพิจารณาสเปคตรัม 1,250 – 950 cm-1 ที่กำกับ glycosidic bonding และ carboxylic ที่ส่งผลต่อการก่อเจลดังนั้นการนำไปใช้จึงจำเป็นต้องมีการเติมน้ำตาลแอลกอฮอล์เพื่อกระตุ้นการทำลายพันธะดังกล่าวด้วย

3.2 การประยุกต์ใช้เพคตินในการทดสอบเคลือบส้ม

ทดลองใช้เพคติน (PCE) เพื่อเป็นสารเคลือบผิวส้มตาม Figure 7 โดยใช้สูตรเพคตินโดยดัดแปลงจากวิธีขององอาจ, 2553 พบว่าเมื่อใช้เพคตินสกัดผสม canaubar wax (สารเคลือบทางการค้า) ผลการทดสอบตาม Table 6 พบว่าอัตราส่วน 5% สามารถยืดอายุส้มได้กว่า 10 วันและลดการใช้สารเคลือบลงได้ 10% ทั้งนี้เพคตินสกัดมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีทำให้สารเคลือบลอกหลุดง่ายเมื่ออากาศร้อนจัดแต่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคด้วยสามารถบริโภคได้จึงเป็นที่น่าสนใจในการทดสอบเคลือบบนผลไม้ที่บริโภคโดยตรงได้เพื่อต่อยอดงานวิจัย

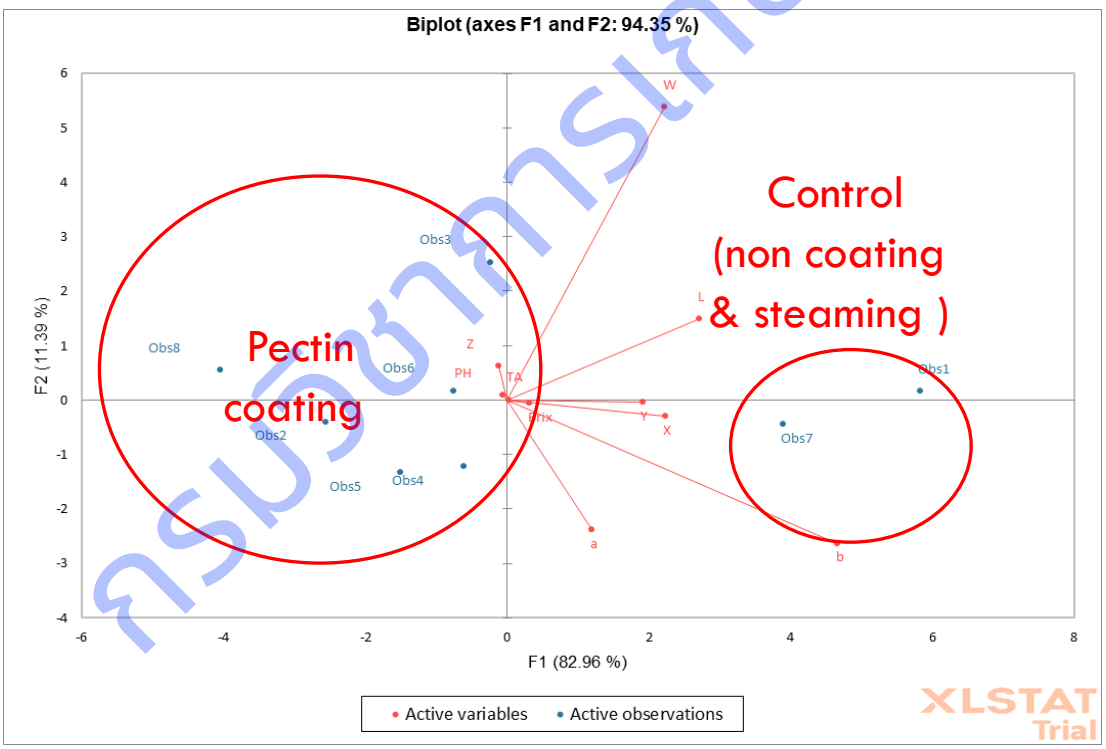


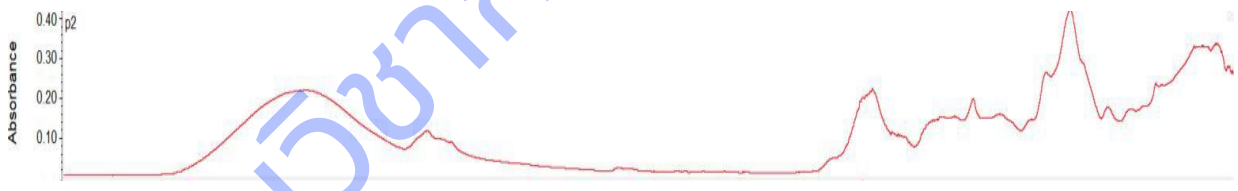
Figure 7 Principal Component Analysis of orange properties described after using 8 treatment of coffee pectin coating suggest in 2 groups varies by their appearance, chemical content, and sensory evaluation.

กรมวิชาการเกษตร

Table 4: Average ratio of pectin composition in coffee pulp and coffee mucilage

Coffee Pulp		Coffee Mucilage	
Contents	Proportions (%)	Contents	Proportions (%)
Pectin substances	*6.50*	Water	84.20
Chlorogenic acid	2.60	Glucose (reducing)	2.50
Caffeine	2.30	Sucrose (nonreducing)	1.60
Nonreducing sugar	2.00	*Pectin*	*1.00*
		Ash	1.60

Table 5: Identification by FTIR & Characterization of pectin extract from coffee pulp & coffee mucilage compared to lab and commercial standard



***sample analyzed using FT-IR Nicolet iS5**

Parameter	Coffee Pectin	Standard	Lab& pharmaceutical
Color	Light Brown	-	-
Moisture (%)	5 ± 0.21	-	5.01
Equivalent Weight (mg)	213.43 ± 0.12	-	-
Galacturonic Acid (mg)	452.84 ± 0.40	>65	78.21

กรมวิชาการเกษตร

Table 6: Properties of Orange Coating by Coffee Pectin after 10 days of storage at ambient temperature in plastic basket

Tm (pectin mixing)	L*	a	b	TSS	TA	SE (odor)	SE (sweet)
Control	16.67±1.63	16.39±5.11	7.12±0.09	11.39	0.51	6.75±0.2	7.43±0.12
2.5%	16.19±1.45	18.58±1.38	8.13±0.14	10.98	0.51	7.23±0.1	7.12±0.02
5%	**13.40±0.73**	**15.64±0.81**	**6.98±0.16**	**10.72**	**0.47**	**8.92±0.1**	**8.75±0.2**
7.5%	15.41±7.30	17.51±7.47	7.00±0.36	10.97	0.55	8.12±0.5	7.12±0.12
10%	14.82±0.09	16.90± 0.21	7.06±0.18	11.06	0.53	7.04 ±0.1	7.02±0.1
12.5%	13.45±2.77	15.53±2.55	7.31±0.51	11.45	0.51	6.34±0.72	6.12±0.2
100%	17.55±7.74	19.17±7.88	7.44±0.26	10.83	0.45	6.71±0.2	7.07±0.2

4.การทดสอบการใช้น้ำเสียจากการหมักกาแฟ

4.1 การทดสอบการใช้น้ำหมักกาแฟซ้ำ

คุณภาพน้ำที่ใช้ในการหมักกาแฟตั้งแต่ขั้นตอนการล้าง การหมักซ้ำครั้งที่ 1 – 3 และการใช้เครื่องขัดเมือกล้วนเกินมาตรฐานคุณสมบัติน้ำเสียเมื่อเปรียบเทียบกับกรมโรงงานอุตสาหกรรมโดยเฉพาะค่าความเป็นกรดด่างที่สูง (pH 3.7 – 4.2) รวมทั้งค่า COD ที่สูงกว่าค่ามาตรฐานกว่า 10 – 50 เท่า และกว่า 100 เท่าเมื่อผ่านเครื่องขัดเมือกและค่า BOD ที่มีปริมาณเพิ่มกว่า 38 – 280 เท่า นอกจากนี้ยังพบปริมาณน้ำมัน (Oil & Grease) และของแข็งแขวนลอยปริมาณมากเกินมาตรฐานอีกด้วย ซึ่งจำเป็นต้องมีการบำบัดก่อนนำปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม จาก Table 7 พบว่าการใช้น้ำหมักซ้ำจำนวนไม่เกิน 3 ครั้งนั้นพบว่าคุณภาพของน้ำซ้ำไม่แตกต่างกันและสามารถให้คุณภาพกาแฟที่ดีนอกจากนี้ยังลดการใช้น้ำได้ โดยตาม Figure 8 และ Table 8 พบว่าปริมาณสารกลุ่ม Furans, Pyrazines และ Maltol ลดลงอย่างมีนัยสำคัญโดยเฉพาะปริมาณ Caffeine ที่ลดกว่า 90% และ MethylChromone กว่า 86.67% ซึ่งสามารถสันนิษฐานได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีปริมาณมากขึ้น (ตามค่า BOD) มีผลต่อการย่อยคาเฟอีน และลดการผลิต methylcrhomone ที่เป็นสารต้านต้านจุลชีพ ทั้งนี้จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับเชื้อที่มีผลต่อการเกิดคุณสมบัติดังกล่าวต่อไปในอนาคต

กรมวิทยาศาสตร์

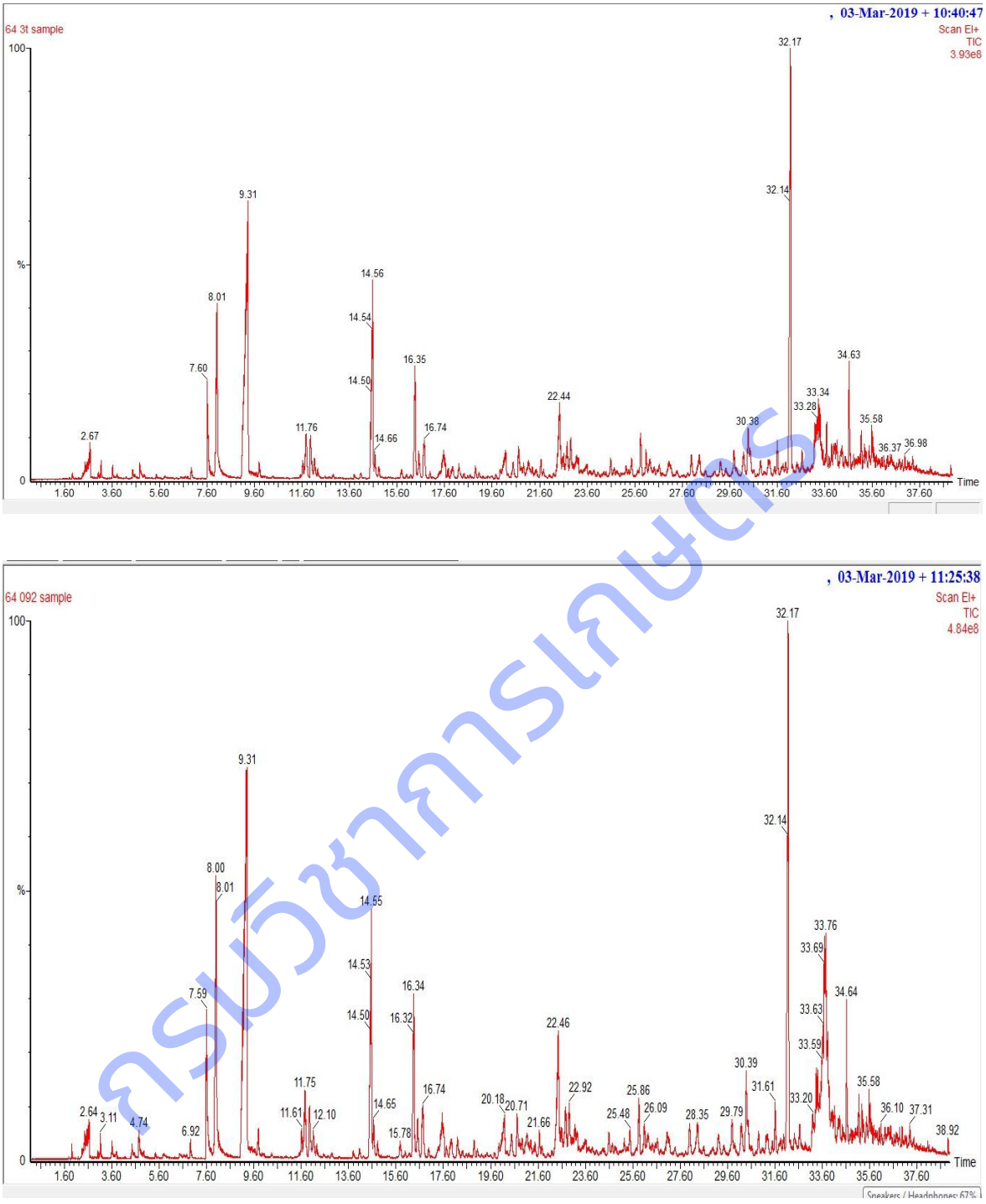


Figure 8 Chromatogram analyzed by HPME-GC-O-FID-MS of Coffee Flavor profiles using reused water (3rd recycle) for fermentation which obviously shown the augmentation of flavor amount of volatiles compounds, mostly in fatty acid contains when using recycling water sample.

กรมวิชาการเกษตร

4.2 การทดสอบการบำบัดน้ำเสียและการนำระบบบำบัดน้ำหมักกาแฟไปใช้ประโยชน์ในแปลงทดสอบ

ผลการทดสอบการออกแบบระบบบำบัดน้ำหมักกาแฟตาม Figure 9 พบการเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติสำคัญเพื่อพัฒนาน้ำหมักให้ได้คุณภาพตามมาตรฐานกรมโรงงานอุตสาหกรรม ได้แก่ ปริมาณความเป็นกรดด่าง(pH) และความขุ่นของน้ำเสีย (Turbidity) ตาม Figure 10 โดยเมื่อทดสอบในแปลงทดสอบโดยการขยายกำลังการบำบัดเป็นขนาดไม่น้อยกว่า 100 ลูกบาศก์เมตรนั้นโดยขยายกำลังการทดสอบตาม Figure 10 และติดตามผลการบำบัดพบว่าผลการทดลองตาม Table 9 โดยการใช้พืช 2 ชนิดในส่วนของ Wetland ได้แก่ ธูปฤาษีและต้นพุทธรักษาเพื่อบำบัดเปรียบเทียบกับการปล่อยบำบัดในดินนั้นพบการบำบัดโดยใช้พืชนั้นสามารถปรับปรุงคุณภาพน้ำหมักกาแฟได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้เมื่อนำน้ำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับน้ำตัวอย่างก่อนหมักใน Table 10 พบว่าระบบการบำบัดที่ได้พัฒนาขึ้นสามารถบำบัดน้ำจากการหมักได้จริงทั้ง 10 คุณสมบัติโดยเฉลี่ย 95% ยกเว้น Oil & Grease หรือน้ำมันจากเครื่องจักรที่เกิดจากการใช้เครื่องสีกาแฟและเครื่องขัดเมือกที่ใช้ในระหว่างการหมักกาแฟ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานน้ำเสียจากกรมโรงงานอุตสาหกรรม (ISI standard) พบว่าน้ำที่ผ่านการบำบัดเข้าเกณฑ์ในการนำกลับมาใช้ซ้ำ หรือสามารถปล่อยสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติได้

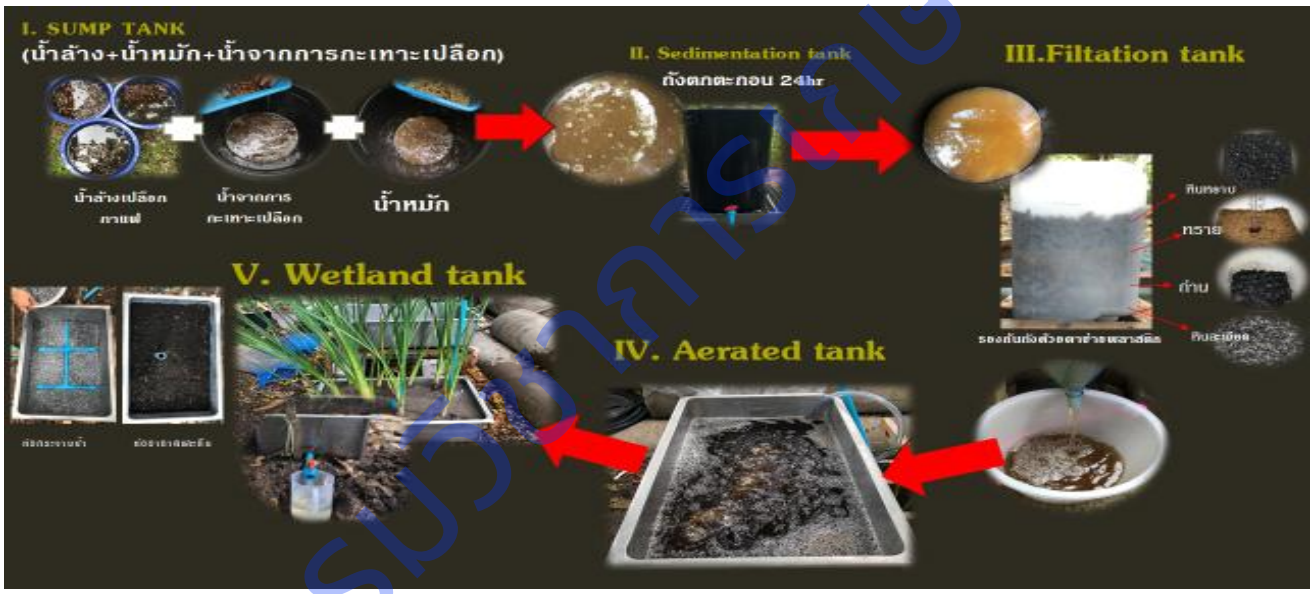
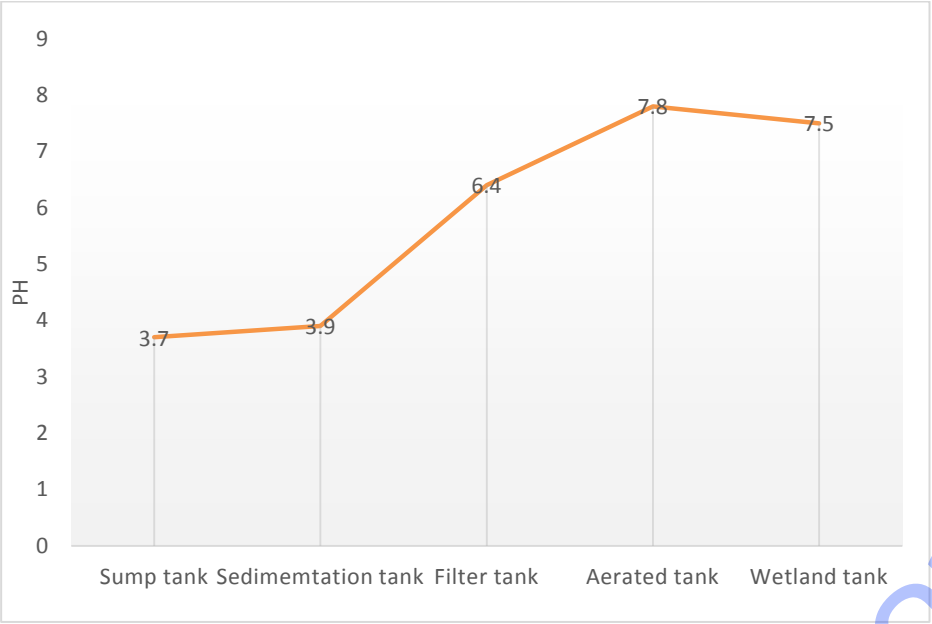


Figure 9 Demonstration protocol of coffee waste treatment method in fifth steps from sump tank to sedimentation tank then the filtration tank combined with aerated tank and stocking the pretreatment water in wetland tank for further used in field or recycling water cycle.

กรมวิทยาศาสตร์



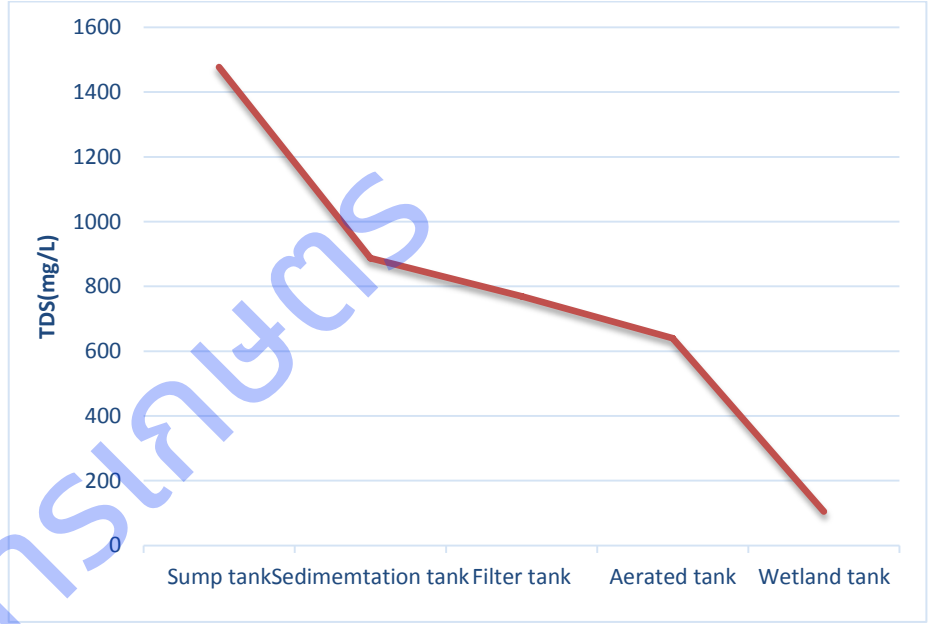


Figure 10 Important following parameter during coffee wastewater treatment iimportant parameter of wastewater during coffee wastewater treatment described in the increasing of water pH contain and the reduction of Total dissolved solid (TDS)

ศูนย์วิทยทรัพยากร

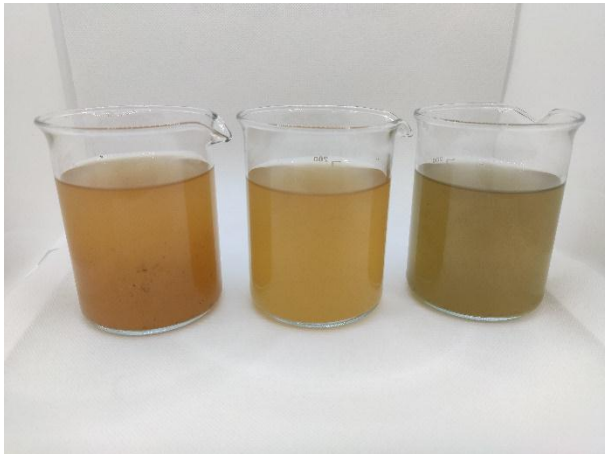
{a} Tentative Pilot Treatment station

(b) Sediment tank

(c) Filtration tank

(d) aerated tank

(e) wetland tank



(f) water after 3 treatment from wetland

Figure 11 Field application of coffee wastewater treatment concept in large scale; (a) – (e) show the upscaling for 100 litres treatment and (f) the pretreatment water after wetland from three treatment (landfill, canna, cattail)

asu.thesis.nus

Table 7: Average ratio of Coffee wastewater in Doi Chang coffee production site, 2021 production years

Parameter	Village pond	Wash water	Mucilage from machine	1st recycle	2nd recycle	3rd recycle	Water Source	ISI standard*
pH	7.7	3.7	3.8	4.2	4.2	4.2	7.5	5.5 – 9.0
COD, mg/ml	< 20	3,097	13,686	1,279	3,077	5,634	< 20	< 120
BOD @ 27 C, mg/L	5	2,388	8,350	755	2,363	3,600	3	< 20
DO, mg/L	5.50	0.40	120	0.53	0.45	0.45	6.85	-
Oil & Grease, mg/L	3.50	10.4	621	9.30	12.0	20.5	< 2.5	< 5
Total Suspended Solids, mg/L	< 20	358	508,300	260	500	1,350	< 20	< 50
Total Dissolved Solids, mg/L	170	1,477	4,275	914	1,636	2,925	86	< 3,000
Settable Solids, mL/L	0.20	11.0	1,000	250	338	350	0	-
Turbidity, NTU	17.4	166	3,981	266	338	644	< 2.0	-

กรมวิชาการเกษตร

Table 8 Description of chemical and flavor profile of coffee bean using coffee recycling water to ferment compared to native coffee fermentation method.

COMPOUNDS	LRI		FID PEAK AREA (10^4)		IDENTIFICATION	CHANGING PERCENTAGE
	FFAP	Ref	Control	3rd recycle		
ACIDS						
ACETIC ACID[1]	1452	1468	1,321 ± 146	1,619 ± 520	MS,LRI	- 57.97%
CARBONYLS						
2,3-BUTANEDIONE[1]	1025		446 ± 33	391 ± 12	MS	27.43%
2,3-PENTADIONE[1]	1063	1067	510 ± 6	541 ± 70	MS, LRI	6.08%
HEXANAL[1]	1084	1079	36 ± 3	42 ± 4	MS, LRI	16.67%
∂-BUTYROLACTONE[1]	1653	1637	3,032 ± 130	3,153 ± 8	MS, LRI	13.4%
β-DAMASCENONE[1]	1833	1828	77 ± 17	71 ± 7	MS,LRI	208%***
ETHANONE	1846		3,797 ± 12	2,604 ± 3	MS	343%***
FURANS						
FURFURAL[1]	1478	1473	13,706 ± 84	9,936 ± 91	MS,LRI	-25.30%
3-FURAMETHANOL	4837		24,562 ± 88	8,835 ± 30	MS	36.53%
2-FURANCARBONXALDEHYDE	1591	1582	5,693 ± 43	6,088 ± 60	MS,LRI	-25.73%
FURYLMETHYLAMINE	1829		3,634 ± 5	3,538 ± 2	MS	14.63%
PHENOLS						
PHENOL[1]	2019	2030	3,797 ± 12	1,595 ± 8	MS, LRI	46.31%***
4-VINYLPHENOL[1]	2413		82 ± 1	75 ± 12	MS	64%
2-METHOXY-4-VINYLPHENOL	1698	909	23,685 ± 43	24,187 ± 3	MS	10.77%
PYRAZINES						
PYRAZINE[1]	1220	1215	2,329 ± 20	1,839 ± 9	MS, LRI	-44.07%
2-METHYLPYRAZINE[1]	1274	1267	7,232 ± 520	7,093 ± 391	MS, LRI	44.57%
PYRROLES						
1H-PYRROLE-2-CARBOXYALDEHYDE[1]	2047	2038	2,559 ± 35	2,409 ± 97	MS, LRI	29.20%
MISCELLANEOUS						
MALTOL[1]	1989	2004	7,595 ± 47	5,290 ± 18	MS, LRI	0.35%
CAFFEINE	3052		23,685 ± 47	2,414 ± 31	MS, LRI	-38.82%
METHYLCHROMONE	1764		17,816 ± 82	2,376 ± 8	MS	9.83%

[1]Compounds reported in Flament (2002); Control = Full-city roasted fermented coffee using AAF techniques ; 3rd recylcle = Full-city roasted 3rd recycling water used for AAF techniques; Identification method : MS = Mass spectrum; LRI = Linear Retention Indices obtained from references or literature values (LRI referred to the value in Mondello et al. (2005); Moon and Shibamoto (2009); Nebesny, Budryn, Kula and Majda(2007); Gonzalez-Rios et al.(2007); Lopez-Gaililea et al.(2006)); "-" = undetected.

Table 9 Field trial on coffee wastewater treatment using three wetland styles (Landfills, Canna and Cattail)

Parameter	*Sump Tank*	*Sediment Tank*	*Filter tank*	*Aerated tank*	*Aerated tank 2*	*Aerated tank 3*	*Plant 1 (Control)*	*Plant 2 (Canna)*	*Plant 3 (Cattail)*
BOD5 (mg/L)	4250	3450	3575	810	785	72	17	28	25
COD (mg/L)	8586	8143	7170	1948	1771	209	48.8	69.6	73.1
DO (mg/L)	2.6	0.8	0.5	0	0	4.2	0.38	0	0.48
Oil & Grease (mg/L)	20	19.5	4.2	10.9	3.9	3.88	6.9	5.59	2.5
pH	4.1	3.9	4	7.2	7.2	7.6	7.2	6.8	6.8
Phosphorus (mg/L)	10.216	9.033	7.48	1.756	3.565	2.211	0.868	0.405	0.268
Settleable Solid (mg/L)	170	2	60	0.1	0.2	0.5	0.1	0.1	0.2
Total Dissolved Solid (mg/L)	3416	3390	3087	1014	1006	380	598	629	540
Total Suspended Solid (mg/L)	287	249	226	60.4	68.3	26.5	6.81	4.98	2.77
Total Nitrogen (mg/L)	1040	405	635	148	75	56	20	40	20
Turbidity (NTU)	2442	1033.5	1269	151.5	28.65	23.4	7.44	68.65	2.41

กรมวิชาการเกษตร

Table 10 Finalization of coffee wastewater parameters after treatment in pilot farm plant. The result shown the amelioration of the entire parameter compared to ISI standard which confirmed the capable of pretreatment water reuse in farm or coffee production plant.

Parameter	Water Before Treatment	Water After Treatment	ISI Standard	%Treatment
BOD	2388 mg/L	5 mg/L	< 20	99 %
COD	3097 mg/L	52 mg/L	< 120	98 %
DO	0.40 mg/L	4.3 mg/L	-	90 %
Oil & Grease	10.4 mg/L	2.5 mg/L	< 5	75 %
pH	3.7	7.5	5.5 – 9.0	90 %
Settleable Solids	11 mL/L	2 mL/L	-	81%
Total Dissolved Solids	1477 mg/L	117 mg/L	< 3,000	92 %
Total Suspended Solids	358 mg/L	8 mg/L	< 50	97 %
TKN	94 mg/L	12 mg/L	-	87 %
Turbidity	166 NUT	10 NUT	-	93 %

กรมวิทยาศาสตร์

การทดลองที่ 2 การศึกษาการหมักกาแฟโดยจำลองแบบระบบย่อยอาหารของสัตว์

ในงานวิจัยก่อนหน้านี้คณะผู้วิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างกาแฟขี้ชะมดสดและขี้ชะมดจากฟาร์มของเกษตรกรผู้ผลิตกาแฟขี้ชะมดในพื้นที่ อ. วาวี จ. เชียงราย ซึ่งผลการคัดแยกจุลินทรีย์จากตัวอย่างขี้ชะมด สามารถแยกได้จำนวน 25 ไอโซเลต ประกอบด้วย แบคทีเรีย 19 ไอโซเลต และยีสต์ 12 ไอโซเลต จัดจำแนกเป็น *Lactobacillus plantarum , Shigella flexneri, Kurthia gibsonii, Escherichia coli* และ *Serratia* sp. และ *Pichia kudriavzevii* จากผลการจัดจำแนกจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้พบว่าในตัวอย่างขี้ชะมดประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่ก่อโรคที่สามารถพบได้ทั่วไปในอุจจาระของสิ่งมีชีวิต ได้แก่ *Shigella flexneri, Kurthia gibsonii, Escherichia coli* ซึ่งไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นจุลินทรีย์ในการผลิตอาหาร แม้ว่ากาแฟที่จะนำมาบริโภคต้องผ่านกระบวนการทำแห้ง และการคั่วด้วยความร้อนสูงที่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ดังกล่าวถือเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้กาแฟขี้ชะมดไม่ได้รับความนิยมในกลุ่มของผู้บริโภคที่มีความกังวลในเรื่องของสุขอนามัยในการผลิตอาหาร แต่อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียแลคติก *Lactobacillus plantarum* และยีสต์ *Pichia kudriavzevii* เป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อการหมักกาแฟ เนื่องจากมีคุณสมบัติในการสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยโปรตีนในกาแฟ เพื่อสร้างสารตั้งต้นของกลิ่นรสในกาแฟได้ (Hadipernata and Nugraha, 2017) และเมื่อทดสอบการหมักกาแฟโดยการเติมเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่แยกจากชะมดพบว่าจุลินทรีย์ที่คัดแยกและนำมาทดสอบสามารถทำให้กาแฟมีความซับซ้อนของกลิ่นกาแฟมากกว่าชุดควบคุม โดยกลิ่นที่ได้มีรสชาติของผลไม้ มีความเปรี้ยว และมีความนุ่มและรสชาติค้างในปาก (Aftertaste) ดีกว่าชุดควบคุม มีคะแนน Cupping เฉลี่ยที่ 80 คะแนน ซึ่งสูงกว่ากาแฟชุดควบคุม (คะแนนเฉลี่ย 73) แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่คัดแยกมาได้มีผลต่อการพัฒนาคุณภาพของกาแฟให้แตกต่างจากการหมักกาแฟแบบเปียก (wet process) เมื่อทำการทดสอบการหมักกาแฟโดยการใช้กรดและเอนไซม์ โดยการเติมกรดไฮโดรคลอริก 0.01%, เติมเอนไซม์เปปซิน 1.4% และเติมเอนไซม์จากตับอ่อน (Pancreatin) 1.4% ในขวดหมักที่บรรจุเมล็ดกาแฟและบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง เพื่อเลียนแบบระบบย่อยอาหารของสัตว์ พบว่ากาแฟที่หมักโดยการเติมเอนไซม์เปปซินและกรรมวิธีที่เติมเอนไซม์จากตับอ่อนมีการเปลี่ยนแปลงรสชาติจากชุดควบคุม โดยกาแฟที่หมักโดยการเติมเอนไซม์เปปซินและกรรมวิธีที่เติมเอนไซม์จากตับอ่อนมีความซับซ้อนของกลิ่นกาแฟมากกว่าชุดควบคุม โดยกลิ่นที่ได้มีกลิ่นโทนหวาน เช่น วนิลาและคาราเมล มีคะแนน Cupping ที่ 75-76 คะแนน ซึ่งสูงกว่ากาแฟชุดควบคุม (คะแนนเฉลี่ย 73 คะแนน) เล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าการเติมเอนไซม์ได้มีผลต่อการพัฒนาคุณภาพของกาแฟให้แตกต่างจากการหมักกาแฟแบบเดิม แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกาแฟขี้ชะมดรสชาติที่ได้จากการหมักโดยการแยกปัจจัยของจุลินทรีย์และเอนไซม์ยังมีความแตกต่างจากกาแฟขี้ชะมด

รายงานฉบับนี้คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาการหมักกาแฟโดยการรวมปัจจัยของจุลินทรีย์ เอนไซม์ การปรับสภาวะเลียนแบบระบบย่อยอาหารของสัตว์ได้แก่ pH และระยะเวลาในการหมักเพื่อจำลองแบบระบบการหมักกาแฟเลียนแบบระบบย่อยอาหารสัตว์เพื่อการผลิตกาแฟที่มีคุณภาพดี

1. ผลการทดสอบการหมักกาแฟด้วยการผสมเอนไซม์และจุลินทรีย์จากลำไส้สัตว์ในขวดหมัก

เมื่อทำการทดสอบการหมักกาแฟโดยการใช้จุลินทรีย์ร่วมกับการเติมเอนไซม์เปปซิน และเอนไซม์จากตับอ่อน (Pancreatin) ในขวดหมักที่บรรจุเมล็ดกาแฟและบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง เพื่อเลียนแบบระบบย่อยอาหารของสัตว์ โดยเมื่อครบเวลา 20 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของชุดควบคุมและชุดที่เติมจุลินทรีย์ผสมเอนไซม์มีค่าลดลงจาก 5.5-6.4 เป็น 4.02-4.15 แสดงให้เห็นว่ามีการสร้างกรดในระหว่างการหมักทั้งสองกรรมวิธี ค่าความหวาน (Brix) มีแนวโน้มสูงขึ้น โดยชุดที่เติมจุลินทรีย์ผสมเอนไซม์มีค่า Brix สูงกว่าชุดควบคุมเพียงเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่ามีกิจกรรมของจุลินทรีย์ในการย่อยเปลี่ยนรูปเพคตินในกาแฟเป็นน้ำตาลได้ดีกว่าชุดควบคุม ค่าความข่นของชุดที่เติมหัวเชื้อจุลินทรีย์สูงกว่าชุดควบคุมแสดงให้เห็นว่ามีการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดี (Figure 12)

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยการชิม (Cupping test) พบว่ากาแฟที่หมักโดยการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมเอนไซม์มีการเปลี่ยนแปลงรสชาติจากชุดควบคุม โดยกาแฟที่หมักโดยการเติมเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่แยกจากชะมดมีความซับซ้อนของกลิ่นกาแฟ (Flavor) มากกว่าชุดควบคุม มีความเปรี้ยว (acidity) ความหวาน (sweetness) และความกลมกล่อมเพิ่มขึ้น (Balance) ดีกว่าชุดควบคุม มีคะแนน Cupping score เฉลี่ย 76.5 ซึ่งสูงกว่ากาแฟชุดควบคุม (คะแนนเฉลี่ย 71.8) เมื่อเปรียบเทียบกับกาแฟ

กรมวิชาการเกษตร

ขี้ชะมดที่จำหน่ายในท้องตลาดกาแฟที่ได้จากการหมักแม้มีการพัฒนาความซับซ้อนของกลิ่นรสมากขึ้นแต่ยังมีความเปรี้ยว ,ความเข้มข้น (body) และรสชาติค้างในปาก (Aftertaste) ต่ำกว่า (Figure 12)

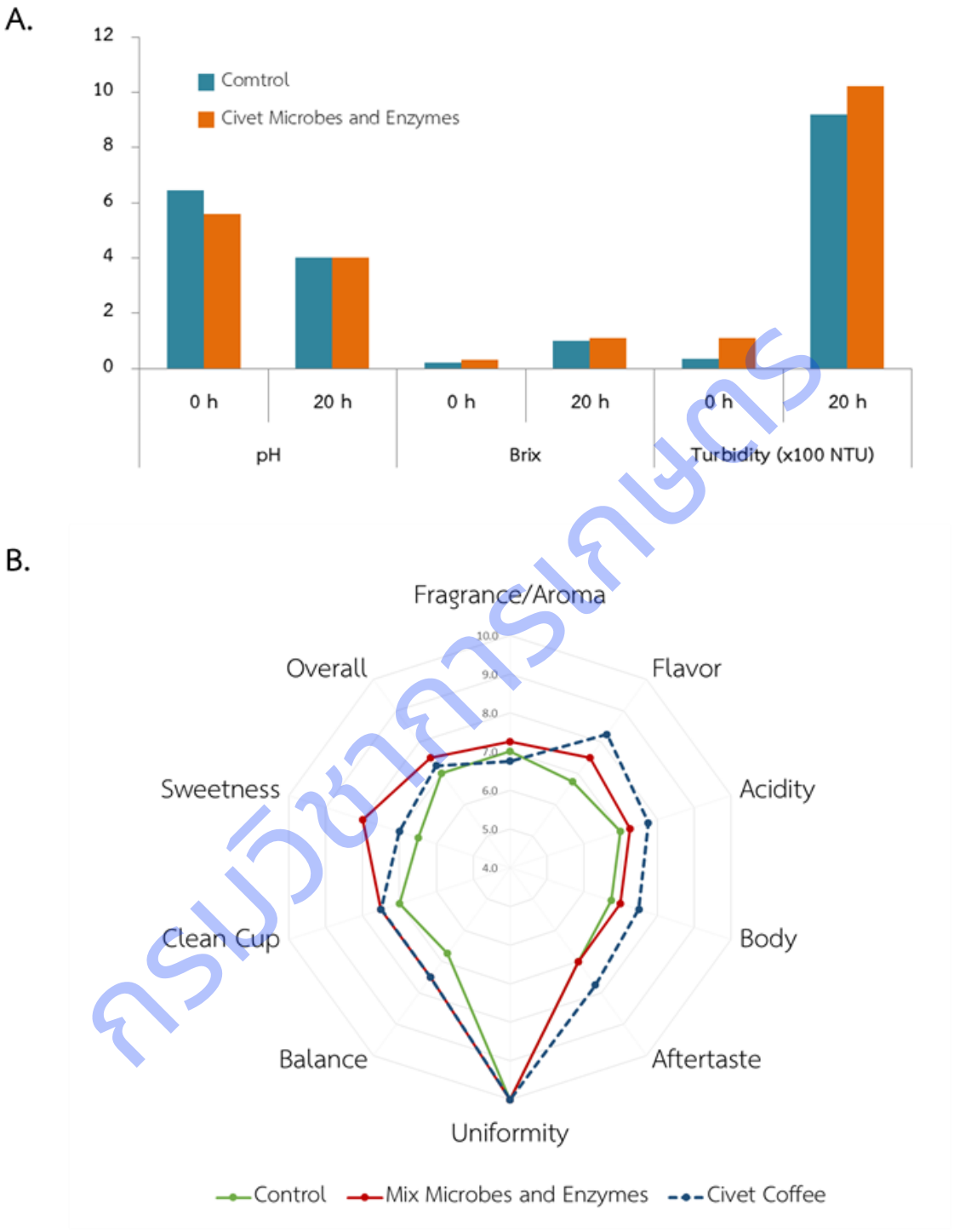


Figure 12 **A.)** Coffee fermentation profiles explain in pH, Brix and Turbidity (NTU) and **B.)** Coffee cupping spider of traditional wet process (Control) , fermentation by using civet microbes and enzymes (pepsin and pancreatin) process and civet coffee

กรมวิชาการเกษตร

2. ผลการทดสอบปัจจัยที่มีผลต่อการหมักกาแฟจำลองระบบย่อยอาหารของสัตว์ในขวดหมัก

2.1 ผลของความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในการหมักกาแฟจำลองระบบย่อยอาหารของสัตว์

เมื่อทดสอบความเป็นกรด-ด่างในการหมักกาแฟโดยหมักกาแฟ 3 กรรมวิธี ได้แก่ ชุดควบคุมที่ไม่เติมจุลินทรีย์ผสมเอนไซม์และไม่ปรับ pH, ปรับ pH เท่ากับ 2 และ ปรับ pH เท่ากับ 4 ในขวดหมักที่บรรจุเมล็ดกาแฟและบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของชุดควบคุมลดลง จาก pH 6 มาอยู่ในระดับ pH 4 แสดงให้เห็นว่ามีการสร้างกรดจากจุลินทรีย์ธรรมชาติในระหว่างการหมัก ชุดทดสอบที่ปรับ pH 4 รักษาระดับ pH คงที่ ในขณะที่ชุดทดสอบที่ปรับ pH 2 มีการเปลี่ยนแปลง pH เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของ pH ดังกล่าวอาจเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในธรรมชาติ ค่าความหวาน (Brix) มีแนวโน้มสูงขึ้น โดยเมื่อหมักครบ 20 ชั่วโมง ทั้ง 3 กรรมวิธี มีค่า Brix สูงกว่าค่าเริ่มต้นประมาณ 0.5 เกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ในการย่อยเปลี่ยนรูปเพคตินในกาแฟเป็นน้ำตาล เมื่อทดสอบค่าความขุ่น (Turbidity) ของกรรมวิธีมีที่ปรับ pH 2 พบว่ามีค่าความขุ่นต่ำกว่าชุดควบคุมแสดงให้เห็นว่ามีการเจริญของจุลินทรีย์ต่ำกว่าและมีการหลุดของเมือกกาแฟน้อยกว่า (Figure 13)ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยการชิม (Cupping test) พบว่ากาแฟที่หมักโดยการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสมเอนไซม์และการปรับ pH มีการเปลี่ยนแปลงรสชาติจากชุดควบคุม โดยการปรับ pH ในการหมักทำให้กาแฟ มีความซับซ้อนของกลิ่นกาแฟ (Flavor) เพิ่มขึ้น มีความเปรี้ยว (acidity) ความหวาน (sweetness) ความกลมกล่อมเพิ่มขึ้น (Balance) และความเข้มข้น (body) ดีกว่าชุดควบคุม การปรับ pH 2 มีคะแนน Cupping score เฉลี่ยที่ 80.3 ซึ่งสูงกว่ากาแฟชุดควบคุม (คะแนนเฉลี่ย 71.8) และกาแฟหมักที่ปรับ pH 4 (คะแนนเฉลี่ย 76.8) (Figure 13)

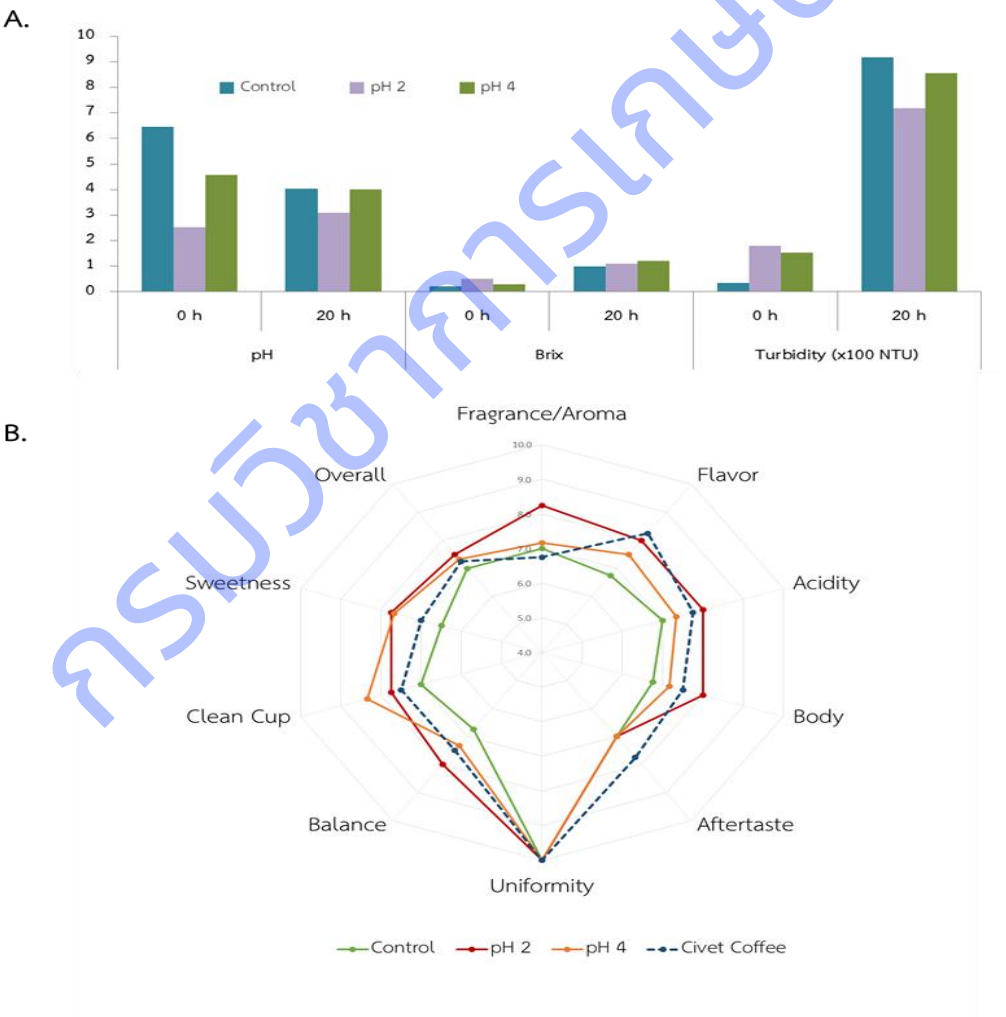


Figure 13 A.) Coffee fermentation profiles explain in pH, Brix and Turbidity (NTU) and **B.)** Coffee cupping spider of three treatments (Control, pH2, pH4) and civet coffee.

กรมวิชาการเกษตร

2.2 ผลของเวลาในการหมักกาแฟจำลองระบบย่อยอาหารของสัตว์

การหมักกาแฟโดยเติมจุลินทรีย์ผสมกับเอนไซม์เปปซิน เอนไซม์จากตับอ่อน (pancreatin) และ การปรับ pH ในระบบการหมัก ให้เท่ากับ pH 2 หมักนาน 18 และ 24 ชั่วโมง เมื่อนำกาแฟคั่วที่ได้จากการหมักมาทดสอบโดยการชิม พบว่าการหมักกาแฟนาน 24 ชั่วโมงส่งผลต่อการเพิ่มความซับซ้อนของกลิ่นรสกาแฟยิ่งขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักในสภาวะเดียวกันแต่ใช้ระยะเวลาสั้น (18 ชั่วโมง) โดยคะแนนของกลิ่น (Fragrance/Aroma) และ รส (Flavor) มีคะแนนสูงขึ้น โดยมีคะแนนสูงถึง 8.5 คะแนน และคะแนน Cupping score รวมของการหมัก 24 ชั่วโมงเฉลี่ยที่ 82 ซึ่งสูงกว่ากาแฟชุดควบคุม (คะแนนเฉลี่ย 71.8) และกาแฟหมัก 18 ชั่วโมง (คะแนนเฉลี่ย 78.5) (Figure 14)

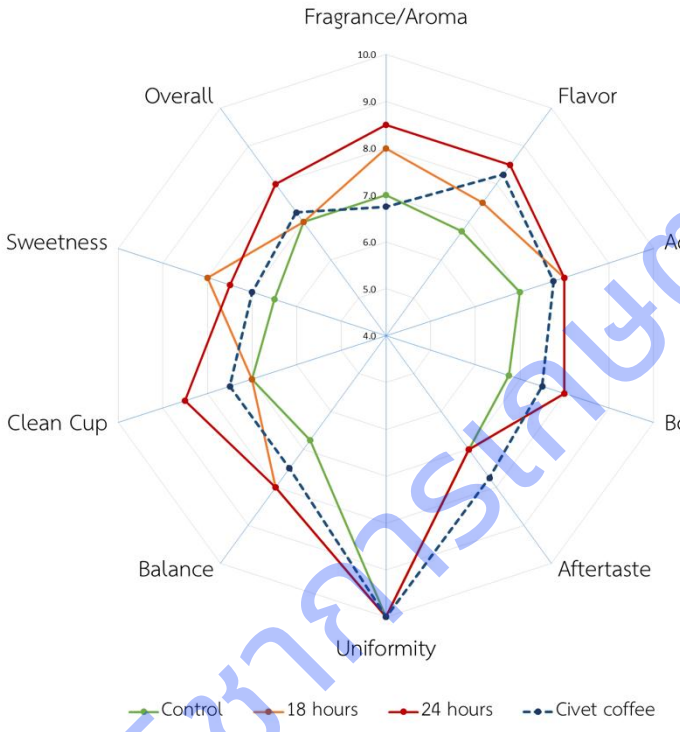


Figure 14 Coffee fermentation profiles of four treatments (Control, HCl, Pepsin and pancreatin) explain in pH, Brix and Turbidity (NTU) in fermentation jar.

2.3 การหมักกาแฟจำลองระบบย่อยอาหารสัตว์ตามกรรมวิธีที่คัดเลือก

เมื่อจำลองระบบการย่อยอาหารสัตว์ในการหมักกาแฟโดยใช้จุลินทรีย์ร่วมกับเอนไซม์ผสมเปปซินและแพนครีเอติน ที่ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 2 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทดสอบองค์ประกอบทางเคมีของกลิ่นกาแฟคั่วโดยการสกัดสารและใช้วัสดุดูดซับที่สัมผัสสารโดยตรง (Solid phase microextraction, SPME) วิเคราะห์ด้วย Gas Chromatography – Mass Spectrometer (GC-MS) พบว่าการจำลองระบบการย่อยอาหารสัตว์ในการหมักกาแฟโดยใช้จุลินทรีย์ร่วมกับเอนไซม์ผสมเปปซินและแพนครีเอติน ที่ความเป็นกรด-ด่าง (pH) 2 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถปรับระดับความเข้มข้นของสารเคมีในกาแฟให้เพิ่มขึ้นให้มีปริมาณใกล้เคียงกับกาแฟขี้ชะมด ได้แก่ Pyrazine, 2,6-dimethyl และ 2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl ซึ่งให้กลิ่นในกลุ่มของถั่ว และ 2-Furanmethanol, acetate และ 2-Methoxy-4-vinylphenol ซึ่งให้กลิ่นในกลุ่มผลไม้ และกลิ่นโทนหวาน (Table 11, Figure 15-17) การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารให้กลิ่นในกาแฟมีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่ใช้ในการทดสอบเข้าไป

กรมวิชาการเกษตร

ย่อยผนังเซลล์หรือโครงสร้างของกาแฟที่เป็นคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนให้มีขนาดเล็กลงเปลี่ยนเป็นสารตั้งต้นของสารให้กลิ่นในกาแฟซึ่งเมื่อนำไปทำปฏิกิริยากับความร้อนโดยการคั่วจึงให้กลิ่นและรสที่แตกต่างกันไป จากผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Muzaifa et. al (2018) ซึ่งเปรียบเทียบกลิ่นรสของกาแฟขี้ชะมดที่ได้จากธรรมชาติและชะมดเลี้ยง โดยรายงานว่ากาแฟที่ได้จากชะมดที่อาศัยในป่าธรรมชาติจะมีกลิ่นและรสในโทนของ ถั่ว ครีมนม สมุนไพร กลิ่นมิ้นท์ และกลิ่นหญ้า ในขณะที่กาแฟที่ได้จากชะมดเลี้ยง จะให้กลิ่นในโทนของ ถั่ว มิ้นท์ กลิ่นหญ้า และกลิ่นผลไม้ แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่ใช้ในการทดสอบมีบทบาทและความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารเคมีภายในกาแฟเพื่อเลียนแบบการผลิตจำลองระบบย่อยอาหารของสัตว์

เมื่อทำการเปรียบเทียบคุณภาพกาแฟที่ได้จากการหมักโดยจำลองระบบย่อยอาหารของสัตว์และคำนวนต้นทุนการทดลองเปรียบเทียบกับกระบวนการหมักแบบเดิม แบบใช้เครื่องจักร และแบบการใช้สารเคมี พบว่าการหมักกาแฟแบบดั้งเดิมนั้นใช้เวลามากกว่า 60 ชั่วโมง เมือกจึงหลุดอย่างสมบูรณ์ โดยในบางพื้นที่มีการเปลี่ยนน้ำในบ่อหมักทุกวันเพื่อลดการเกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในกาแฟ เช่น กลิ่นเปรี้ยว หรือลดเวลาหมักโดยการแช่เม็ดกาแฟในบ่อหมัก 1 วันและทำการขัดเมือกโดยใช้เครื่องจักร ซึ่งใช้พลังงานไฟฟ้าและน้ำมากอีกทั้งยังมีเกิดการปนเปื้อนกลิ่นเครื่องจักรในกาแฟได้ ซึ่งมีต้นทุนประมาณ 35- 135 บาทต่อกิโลกรัมสารกาแฟ (green bean) (Table 12) แต่อย่างไรก็ตามแม้ว่าการหมักโดยการหมักโดยจำลองระบบย่อยอาหารของสัตว์จะสามารถสิ้นสุดการหมักได้ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ช่วยลดทรัพยากรในการหมักได้แก่ เวลาและปริมาณน้ำ ซึ่งเป็นต้นทุนสำคัญในการผลิตกาแฟอาราบิก้าได้ถึง 80% และให้กาแฟที่มีคุณภาพดีกลิ่นรสแตกต่างจากกรรมวิธีแบบดั้งเดิม แต่เนื่องจากการหมักดังกล่าวจำเป็นต้องใช้เอนไซม์ 2 ได้แก่ เอนไซม์เปปซิน และเอนไซม์จากตับอ่อน (Pancreatin) ในการช่วยย่อย ทำให้ต้นทุนในการหมักกาแฟสูงถึงประมาณ 180 บาทต่อกิโลกรัมสารกาแฟ หรืออาจจะสูงกว่านั้นขึ้นกับคุณภาพของเอนไซม์ที่ใช้ในการหมัก จึงทำให้การหมักกาแฟโดยการจำลองระบบย่อยอาหารสัตว์ไม่เหมาะต่อการใช้ในการผลิตกาแฟปริมาณมาก เหมาะสมต่อการผลิตกาแฟในระดับพรีเมียมสำหรับกลุ่มลูกค้าที่มีความต้องการเฉพาะเท่านั้น

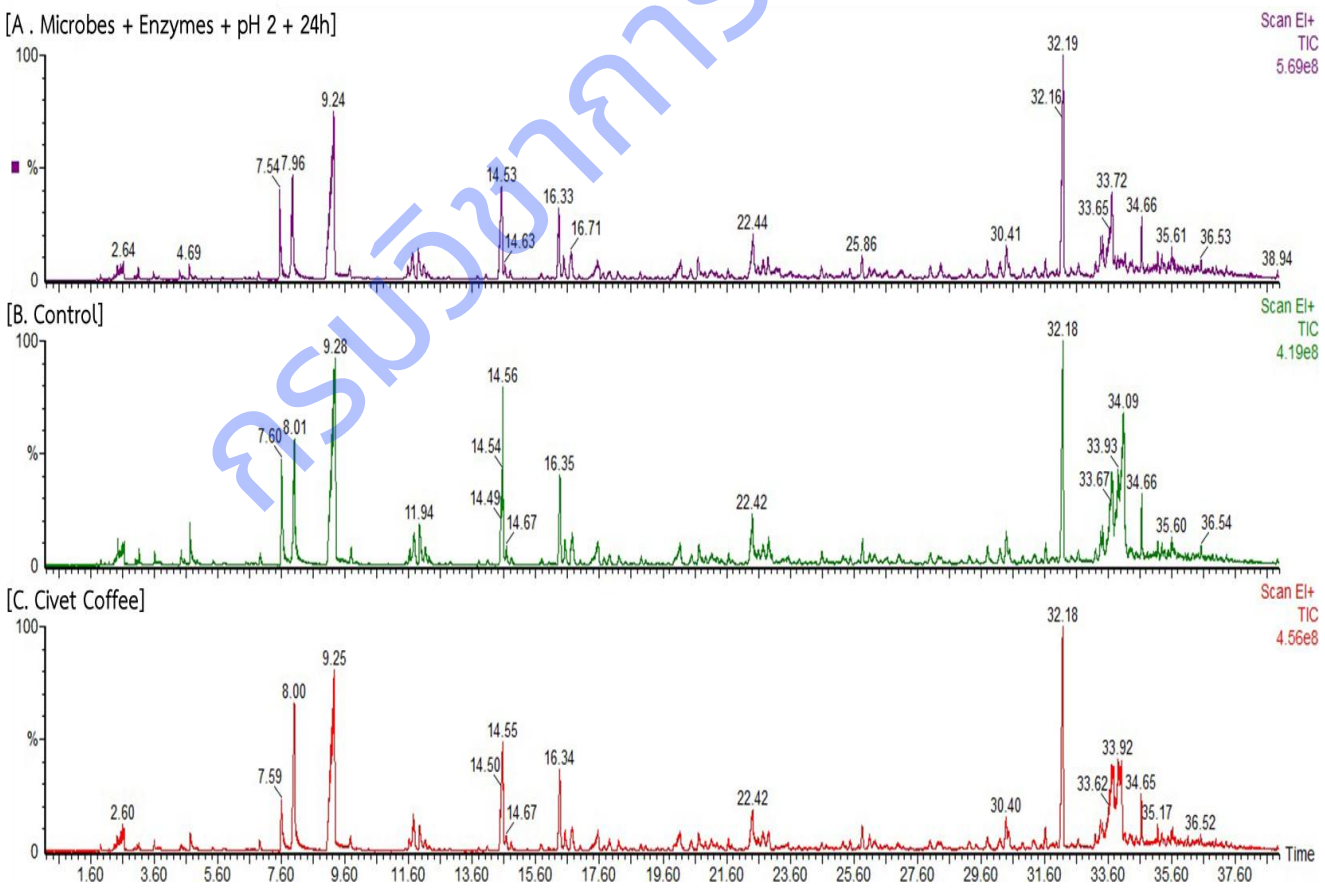


Figure 15 Chromatograms of chemical compounds in roasted fermentation coffee and civet coffee.

กรมวิชาการเกษตร

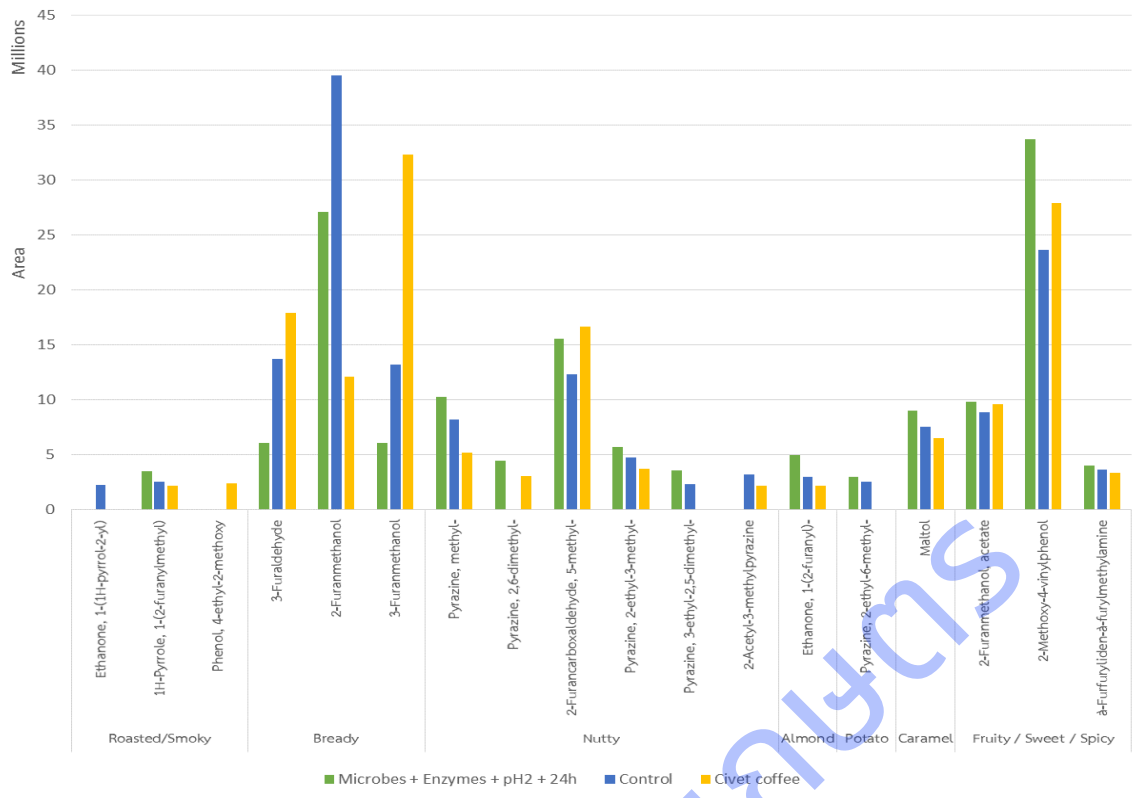


Figure 16 Chemical compounds in roasted fermentation coffee and civet coffee.

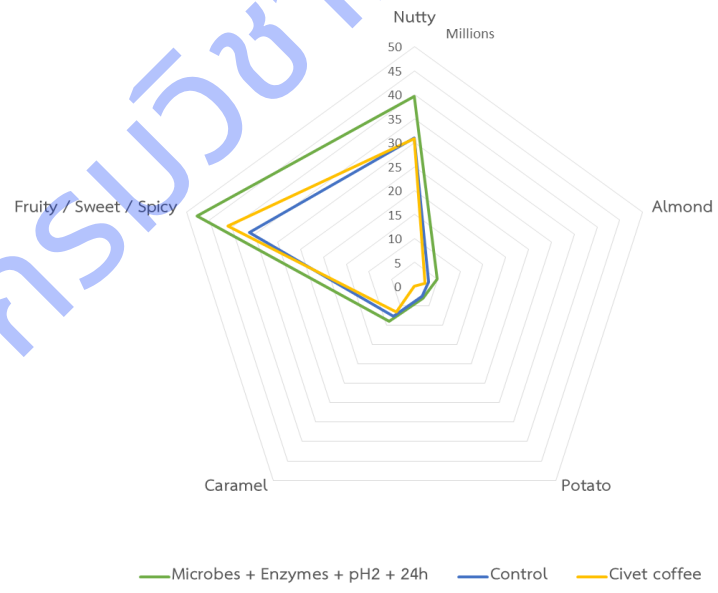


Figure 17 Coffee cupping spider of simulation of animal digestive system (Microbe + Enzyme + pH2 + 24h), control and Civet coffee.

กรมวิชาการเกษตร

Table 11 Chemical compounds and flavor/aroma description of fermentation coffee

No.	Time	Chemical compound in coffee	Flavor/Aroma
1	7.54	Pyrazine, methyl-	Nutty
2	7.926	3-Furaldehyde	Bready
3	9.152	3-Furanmethanol	Bready
4	9.19	Thiophene, 2-methyl-	Undescribed
5	9.24	2-Furanmethanol	Bready
6	11.716	Ethanone, 1-(2-furanyl)-	Almond, cocoa
7	11.904	Pyrazine, 2,6-dimethyl-	Nutty
8	14.531	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	Nutty
9	16.327	2-Furanmethanol, acetate	Fruity, Banana
10	16.48	Pyrazine, 2-ethyl-6-methyl-	Potato
11	16.713	Pyrazine, 2-ethyl-3-methyl-	Nutty
12	17.542	1H-Pyrrole, 2,3-dimethyl-	Undescribed
13	20.699	Pyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethyl-	Nutty
14	20.128	Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)	Roasted
15	20.725	Pyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethyl-	Nutty
16	22.443	Maltol	Caramel
17	22.926	2-Acetyl-3-methylpyrazine	Nutty
18	25.856	1H-Pyrrole, 1-(2-furanylmethyl)	Roasted
19	29.8	5-Quinazolinol	Undescribed
20	30.205	3a,6-Methano-3aH-indene, 2,3,6,7-tetrahydro-	Undescribed
21	30.41	Resorcinol, 2-acetyl-	Undescribed
22	30.484	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy	Smoky, Roasted
23	32.189	2-Methoxy-4-vinylphenol	Spicy, Sweer taste
24	33.367	2-Methyl-3H-quinazolin-4-one	Undescribed
25	33.441	4-Hydroxy-7-methyl-1,8-naphthylidine	Undescribed
26	33.825	Cyclopentane, (3-methylbutylidene)	Undescribed
27	33.924	Caffeine	Beany roasted coffee
28	34.032	erythro-(Z)(1,4),(E)(1',4')-4,4'-Dihydroxybicyclooctyl	Undescribed
29	34.662	à-Furfuryliden-à-furylmethylamine	Sweet/vanilla, Fruity/Spicy

Note. Flavor/Aroma description from Flament, 2002 and Aprotosoaie et. al, 2016

กรมวิชาการเกษตร

Table 12 Cost investment of different fermentation method (1 kilograms of green coffee beans)

Process	Cost (baht)	Time	Disadvantage
Traditional Wet Process	55	Above 60 hr	- Long fermentation - Enormous water used
Machine	35	1 min/kg	- Incomplete demucilage - Broken beans
Chemical	135	Above 24 hr	- Chemical residue, unpleasant odor
Simulation of animal digestive system	180	24 hr	

การทดลองที่ 3 ศึกษาอัตราส่วนสาร Cafestol และ Kahweol ในกาแฟต่อการพัฒนาคุณภาพและอัตลักษณ์กาแฟเฉพาะถิ่น

1. ผลการศึกษากระบวนการวิเคราะห์สารกลุ่ม Diterpene (Cafestol และ Kahweol)

สามารถสกัดสาร diterpene จากเมล็ดกาแฟด้วยวิธี Soxhlet วิเคราะห์ด้วย PS-GC-FID ตามวิธีวิเคราะห์ด้วยวิธี GSLS และ AOAC ใช้เวลาในการสกัดเพียง 4 ชั่วโมงแล้วฉีดสารโดยการใช้กระบวนการ Pulsed split inlet (PS) ที่อุณหภูมิ 330 องศาเซลเซียสใช้ความดันที่ 25 psi วิเคราะห์โดยเครื่อง Gas Chromatography - FID คอลัมภ์ชนิด Elite-5MS column (10m, 0.25mm, 0.15 mm) ที่อุณหภูมเริ่มต้นที่ 50 องศาเซลเซียว (0.25 min) โดยอัตรา 15 C/min ถึง 380 องศาเซลเซียส (10 min)

2. ผลวิเคราะห์ปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol พร้อมปัจจัยการเพาะปลูก พื้นที่และกรรมวิธีการปลูกที่ส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญ

2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol. จากปัจจัยการเพาะปลูก

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในเมล็ดกาแฟหลังเก็บเกี่ยวและในน้ำมันสกัดจากเมล็ดกาแฟพบว่ามีปริมาณไขมันในประเทศไทยเฉลี่ยอยู่ที่ 10.45 กรัมต่อ 100 กรัมเมล็ดกาแฟ (Table 14) ทั้งในกาแฟ *C. arabica* และ *C. canephora* แต่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและโพลีแซกคาร์ไรท์ที่เป็น precursor ของการผลิตสารกลุ่มดังกล่าวมีความแตกต่างกันโดยใน *C. Arabica* จะมีปริมาณมากกว่า *C. canephora* ทั้งนี้ปริมาณขึ้นอยู่กับแหล่งผลิตที่เพาะปลูกกาแฟทั้งสองชนิดโดยเมื่อทำการสกัดน้ำมันจากเมล็ดกาแฟเพื่อทำการศึกษาปริมาณสาร Diterpene ester ที่เป็นกลุ่มของ Cafestol และ Kahweol พบว่ามีอยู่เพียงร้อยละ 18.9 เท่านั้น โดยเมื่อวิเคราะห์ถึงส่วนประกอบของกรดไขมันพบว่าเป็นกรดไขมันจำนวน 2 ชนิดหลักได้แก่ กรดไลโนเลอิกและกรดปาล์มิติก (Table 13)

อย่างไรก็ตามเมื่อทำการวิเคราะห์แยกส่วนของสารประกอบกลุ่ม Diterpene โดยการสกัดน้ำมันจากส่วนต่างๆ (Table 2) ได้แก่ Perisperm, Endosperm, Pericarp และ Leaf จะไม่พบสารกลุ่ม Kahweol ในกาแฟสายพันธ์ *C. canephora* ในขณะที่พบสาร Kahweol ปริมาณมากใน Perisperm และ Endosperm ของ *C. Arabica* ประมาณ 516 – 590 mg/100g of Sample ส่วนสาร Cafestol นั้นจะพบในกาแฟทั้งสองชนิด โดยเมื่อทำการติดตามปริมาณสารสำคัญทั้งสองชนิดตามจำนวนวันหลังดอกบาน (Day After Flowering :DAF) พบว่าช่วงเวลาที่มีปริมาณสารกลุ่มดังกล่าวมากที่สุดคือ DAF90 – DAF150 ซึ่งเป็นช่วงเก็บเกี่ยวของเมล็ดกาแฟโดยพบข้อสังเกตว่าปริมาณ ratio ของสาร cafestol/kahweol นั้นมีปริมาณคงที่ในช่วงเวลาดังกล่าวทั้งนี้เมื่อทดสอบเปรียบเทียบกับวิธีการปลูกในแบบต่างๆในพื้นที่เดียวกันนั้นไม่พบความแตกต่างของปริมาณ ratio ของสาร cafestol/kahweol แต่มีความแตกต่างกันโดยตรงในพื้นที่เพาะปลูกโดยสามารถแบ่ง *C. Arabica* ได้เป็นสองกลุ่มได้แก่พื้นที่สูงกว่าระดับน้ำทะเล 600 เมตรที่มีอัตราส่วน

กรมวิชาการเกษตร

ระหว่าง 0.80 – 1.50 และ1,200 เมตรขึ้นไปที่มีอัตราส่วนระหว่าง 0.10 – 0.50 ส่วน *C. canephora* พบอัตราส่วนคงที่ที่ 180 – 200

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารสำคัญและอัตราส่วนที่แสดงถึงอัตลักษณ์ของกาแฟอาราบิก้าและโรบัสต้าเฉพาะถิ่นก่อนการเก็บเกี่ยวพบว่าอัตราส่วนของสารประกอบ diterpene มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างสายพันธ์อะราบิก้าและโรบัสต้า โดยเมื่อเปรียบเทียบกับผลของแหล่งเพาะปลูกที่แบ่งตามอุณหภูมิเพาะปลูกที่ต่ำกว่า (18 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิที่สูงกว่า (26 องศาเซลเซียสต่อปี)จะมีผลต่อปริมาณของสารประกอบทั้ง Cafestol และ Kahweol ซึ่งหากเปรียบเทียบ ratio จะส่งผลเพียงเล็กน้อยหากเป็นพื้นที่เพาะปลูกเดียวกันแต่แตกต่างกันที่อุณหภูมิแต่ปริมาณน้ำฝนกลับส่งผลอย่างมากโดยในพื้นที่ที่มีปริมาณน้ำฝนมากกว่า 1,500 มิลลิเมตรต่อปีทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของ C/K ratio สูงมากดังนั้นแสดงให้เห็นว่าปัจจัยก่อนเก็บเกี่ยวปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอัตราส่วนที่สำคัญนอกจากจะเป็นสายพันธ์กาแฟ (อะราบิก้าและโรบัสต้า) แล้วยังมีผลที่พื้นที่เพาะปลูกและปริมาณน้ำฝนอีกด้วย_สำหรับผลทางประสาทสัมผัสต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารสำคัญของกาแฟอาราบิก้าและโรบัสต้าเฉพาะถิ่นก่อนการเก็บเกี่ยวพบว่าหากอุณหภูมิที่สูงและปริมาณน้ำฝนมากจะส่งผลต่อคะแนน Cupping score ชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบในพื้นที่เดียวกันที่อุณหภูมิเพาะปลูกต่ำกว่าโดยคะแนนผลการชิมมีความแตกต่างกันกว่าร้อยละ 11.84 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผลของแหล่งเพาะปลูกนั้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารสำคัญ Cafestol และ Kahweol และผลของคะแนนทางประสาทสัมผัสอีกด้วยดังนั้นคุณภาพของกาแฟที่แสดงถึงแหล่งเพาะปลูกจึงมีความสำคัญตั้งแต่การคัดเลือกแหล่งเพาะปลูกที่จะสื่อถึงอัตลักษณ์กาแฟรวมทั้งคุณภาพก่อนเข้าสู่กระบวนการแปรรูปอีกด้วย

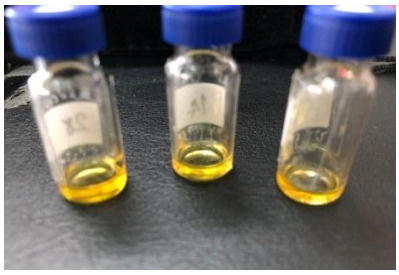
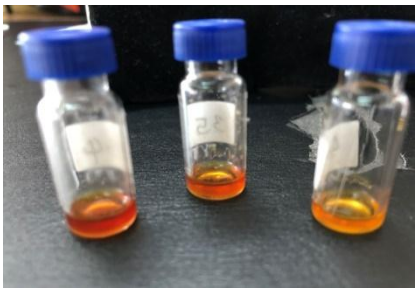
Table 13 Average fatty Acid composition in Thai Coffee Oil extracted (200 Sample of *C.arabica* and *C. canephora* planting between 700 – 1,200 metres altitudes and cultivated in Thailand during 2018 - 2021

Average Fatty Acid Composition (over 200 samples)	*Coffee Oil (g/100g)*
Total Monounsaturated fatty acid	0.94
Myristoleic acid (C14_1)	ND
cis-10-Pentadecenoic acid (C15_1)	ND
Palmitoleic acid (C16_1)	ND
cis-10-Heptadecenoic acid (C17_1)	ND
Oleic acid (C18_1n9c)	0.9
cis-11-Eicosenoic acid (C20_1n9)	0.04
Erucic acid (C22_1n9c)	ND
Nervonic acid (C24_1n9)	ND
Total Polyunsaturated fatty acid	4.65
Linoleic acid (C18_2n6c)	4.52**
Gamma-Linolenic acid (C18_3n6)	ND
Alpha-Linolenic acid (C18_3n3)	0.13
cis-11,14-Eicosadienoic acid (C20_2n6)	ND
cis-8,11,14,17-Eicosatrienoic acid (C20_3n3)	ND
Arachidonic acid (C20_4n6)	ND
cis-13,16-Docosadienoic acid (C22_2n6)	ND
cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid (C20_5n3)	ND
cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexanenoic acid (C22_6n3)	ND
Total Saturated fatty acid	4.85
Butyric acid (C4_0)	ND
Caproic acid (C6_0)	ND
Caprylic acid (C8_0)	ND

กรมวิชาการเกษตร

	Capric acid (C10_0)	ND
	Undecanoic acid (C11_0)	ND
	Lauric acid (C12_0)	ND
	Tridecanoic acid (C13_0)	ND
	Myristic acid (C14_0)	0.01
	Pentadecanoic acid (C15_0)	ND
	Palmitic acid (C16_0)	3.71**
	Heptadecanoic acid (C17_0)	0.01
	Stearic acid (C18_0)	0.75
	Arachidic acid (C20_0)	0.27
	Heneicosanoic acid (C21_0)	0.01
	Behenic acid (C22_0)	0.06
	Tricosanoic acid (C23_0)	0.01
	Lignoceric acid (24_0)	0.02
Total fat		**10.45**

Table 14 Cafestol and Kahweol content in Thai coffee separated with different tissues in *C. arabica* and *C. canephora* compared to the content report by R. Eloy Diaz (2010)

Varieties	*Samples*	*Content in Tissues (mg/100g of Sample)*[a]			
		Perisperm + Endosperm (Bean)	Pericarp(Pulp)	Leaf	Extract
C. arabica	Cafestol	876 ± 38	13.5 ± 2	ND	
	WCR report	1,105 ± 13	ND	ND	
	Kahweol	462 ± 1	31 ± 9	40 ± 1	
	WCR report	430 ± 2	49 ± 2	45 ± 2	
C. canephora	Cafestol	185 ± 2	36 ± 1	3 ± 1	
	WCR report	200 ± 3	32 ± 2	ND	
	Kahweol	15.6 ± 5	ND	ND	
	WCR report	ND	ND	ND	

ND = Not detected. [a] Measurement conducted using gas chromatography analysis.

กรมวิทยาศาสตร์

3. การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol ระหว่างกระบวนการหมักย่อยเมือกกาแฟ

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร Cafestol และปริมาณสาร Kahweol ต่อการหมักเมล็ดกาแฟ (Figure 18) ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารกลุ่ม diterpene ทั้งสองอย่างมีนัยสำคัญโดยเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณชุดควบคุมพบการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ Cafestol โดยเฉลี่ยเพียง 12.32% และ Kahweol โดยเฉลี่ยเพียง 5.82% ทั้งนี้เมื่อนำมาคำนวณเป็นค่าอัตราส่วน Cafestol/Kahweol พบว่ามีค่าคงที่ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการหมักย่อยเมือกาแฟไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารกลุ่ม diterpene

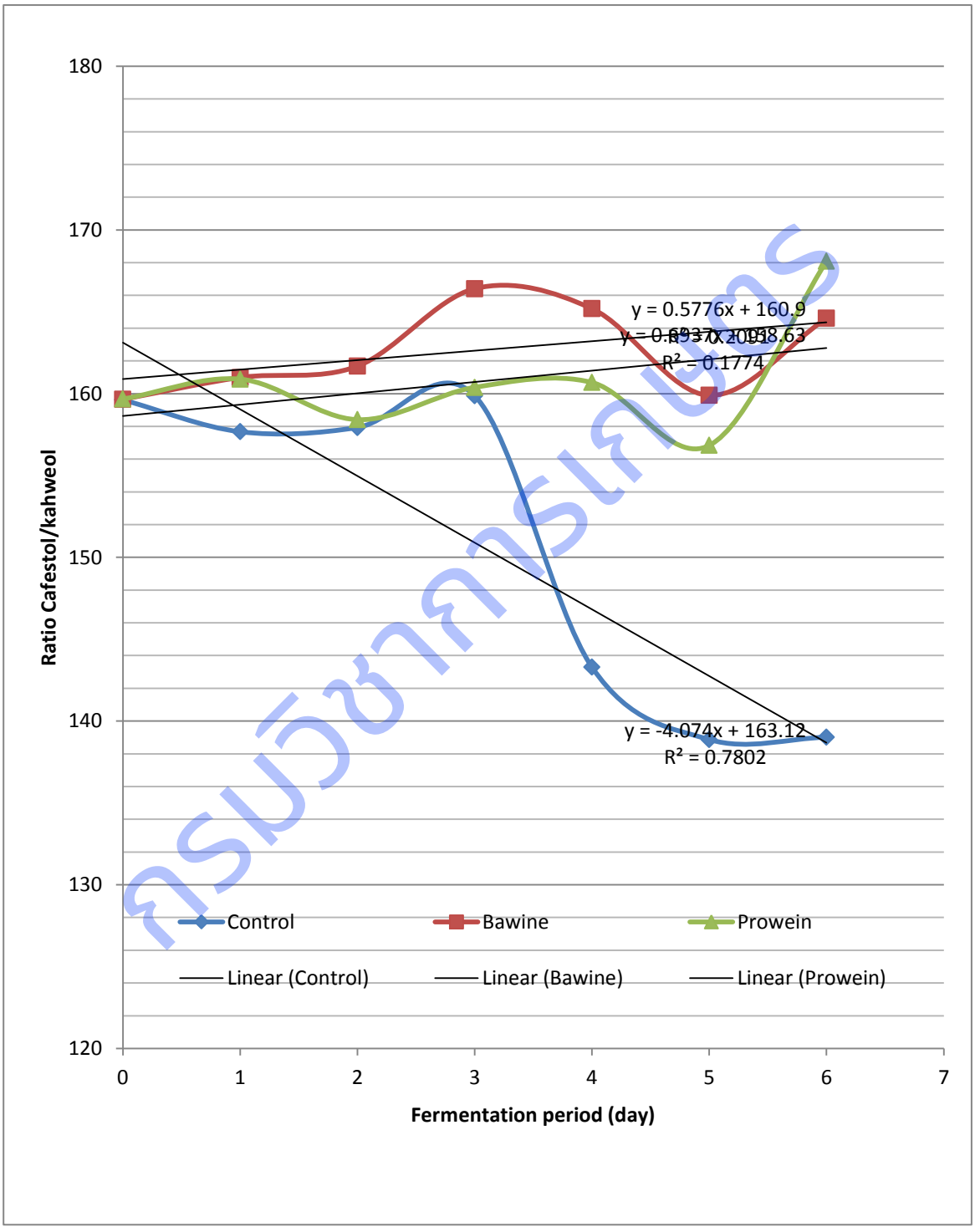


Figure 18 Ratio of Cafestol/Kahweol during *C. Arabica* Fermentation period

กรมวิชาการเกษตร

4. การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol จากการทำแห้งสารกาแฟ

ผลการเปรียบเทียบการทำแห้งกาแฟกะลาจำนวน 5 วิธีจนความชื้นเมล็ดกาแฟน้อยกว่าร้อยละ 5 (Bean Moisture content < 5%) ได้แก่ การตากแดดธรรมชาติ, การใช้ตู้อบลมร้อนที่ 60 องศาเซียส, การใช้โรงอบลมร้อนและการคั่วอ่อนที่อุณหภูมิไม่เกิน 80 องศาเซลเซียส (Figure 19) พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร Cafestol และ Kahteol อย่างมีนัยสำคัญโดยพบว่าเมื่อใช้ความร้อนในการทำแห้งสูงโดยเฉพาะการเลือกใช้กระบวนการทำแห้งโดยใช้เครื่องมือไม่ว่าจะเป็นตู้อบ โรงอบพลังงานแสงอาทิตย์หรือการใช้เครื่องคั่วอ่อนนั้นปริมาณสารดังกล่าวจะลดลงในปริมาณมากเมื่อเทียบกับชุดควบคุมจากร้อยละ 50 – 75 ทั้งนี้ผลจากการลดลงของสารทั้งสองชนิดเมื่อนำมาคำนวณอัตราการลดลงเป็นอัตราส่วนของ Cafestol/Kahweol จะเป็นไปในทางเดียวกันโดย Ratio จะอยู่ที่ 1.47 – 1.33 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าบ่งบอกอัตลักษณ์ของกาแฟ อย่างไรก็ตามเมื่อทำการทดสอบชิมในชุดทดลองทั้ง 5 ชุดพบผลการทดสอบของคุณภาพที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญโดยชุดทดสอบที่ใช้เวลาการทำแห้งนานที่สุดคือชุดควบคุมและชุดตากแห้งโดยแสงอาทิตย์ที่ใช้เวลากว่า 2 สัปดาห์นั้นมีผลการทดสอบชิมในระดับคะแนน 74.52 - 75.35 แตกต่างกับชุดทดสอบที่ใช้เตาอบ โรงอบลมร้อนหรือการทำ preroast ที่มีผลทดสอบชิมเพียง 61.25 – 67.25 ซึ่งคะแนนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญโดยเฉพาะข้อมูลผลการชิมที่ได้ให้คำจำกัดความเรื่อง underoast (กาแฟไม่สุก) หรือกลุ่มรสชาติถั่วดิบและถั่วงอกทำให้ผลการทดสอบชิมมีความไม่พึงพอใจสูงกว่าชุดทดสอบที่ทำการตากโดยพลังงานแสงอาทิตย์และชุดควบคุมอย่างสิ้นเชิง ทั้งนี้แม้ในสภาวะจริงเกษตรกรที่แปรรูปกาแฟในพื้นที่สูงจำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ช่วยทำแห้งด้วยในระหว่างการแปรรูปกาแฟสภาพภูมิอากาศไม่อำนวยในการทำแห้งกาแฟนั้น จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการทำความเข้าใจถึงปัจจัยของอุณหภูมิต่อคุณภาพกาแฟต่อไป

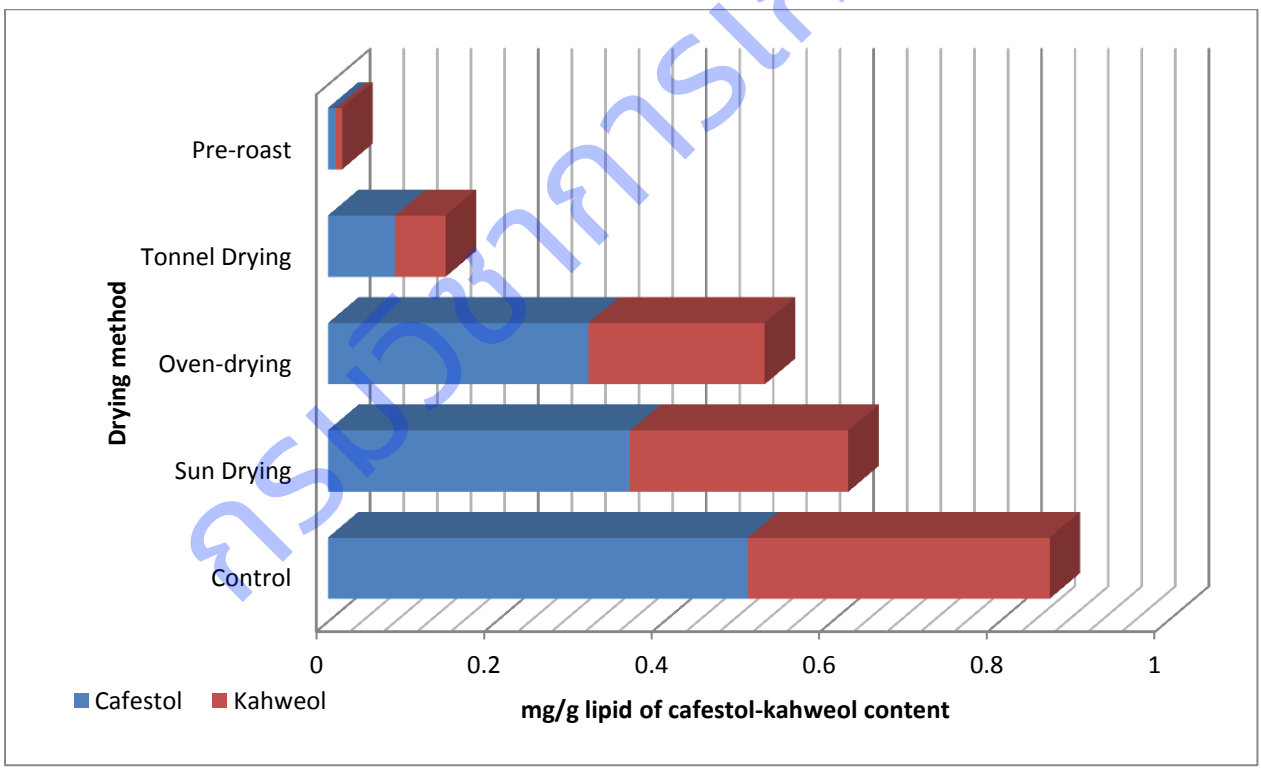


Figure 19 Effect of different drying method on Cafestol and Kahweol content in perisperm tissue during *C. arabica* fermentation

กรมวิชาการเกษตร

5. ปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol พร้อมปัจจัยการเก็บรักษาเมล็ดกาแฟภาวะต่างๆที่ส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญ

ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารสำคัญของกาแฟในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 6 กรรมวิธีพบว่าหลังจากทดสอบเก็บทดสอบเก็บสารกาแฟที่อุณหภูมิและความชื้นควบคุม พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณลดลงของปริมาณน้ำมันโดยรวมและสารสำคัญ (Table 15, Figure 20) โดยพบว่าตั้งแต่เวลาการเก็บรักษา 210 วันถึง 300 วันพบว่าสารกาแฟที่เก็บในชุดควบคุม, ถุงฟลอยและถุง PP seal ปิดสนิทมีปริมาณน้ำมันลดลงอย่างมากโดยเมื่อวิเคราะห์ปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol ยังพบการลดลงของสารดังกล่าวด้วยแม้อัตรา C/K จะลดลงเพียงเล็กน้อยเกือบคงที่จากค่าเริ่มต้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีเพียง HDPE ที่สามารถควบคุมปริมาณน้ำมันและสารสำคัญ ได้ดี โดยมีถุง PP และ PE ที่สามารถควบคุมได้ใกล้เคียงกันที่ไม่น้อยกว่าร้อยละ 10 ของปริมาณเริ่มต้น โดยสันนิษฐานว่าปริมาณออกซิเจนส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารสำคัญทั้ง 2 ชนิด

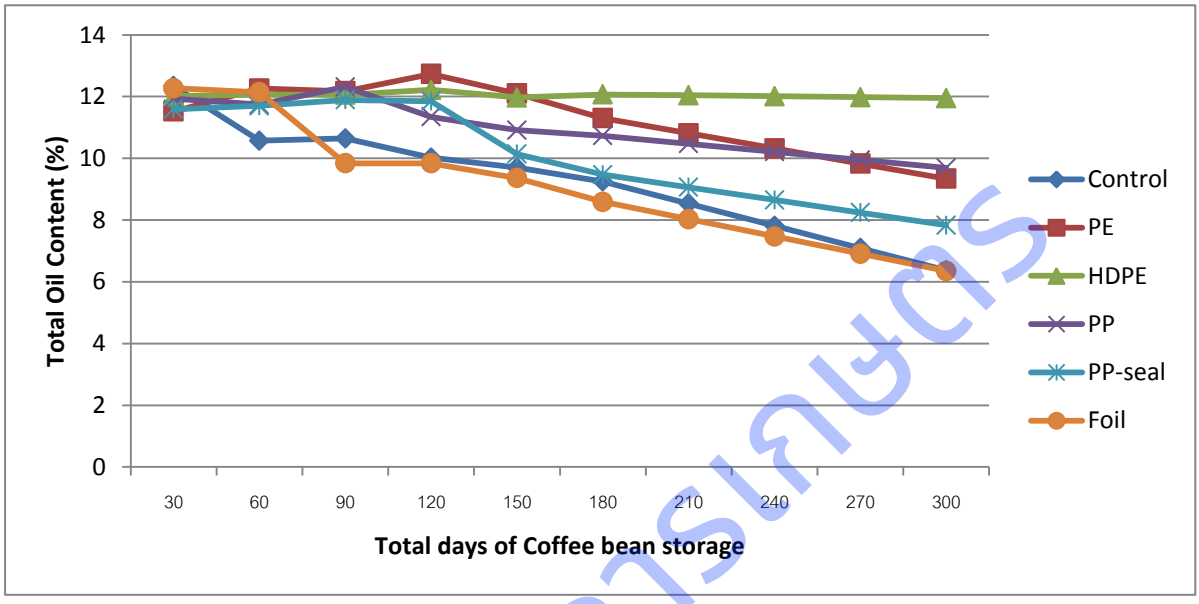


Figure 20 Shown evaluation of coffee oil content in six types after 210 days of storage

Table 15 Yield (g100. g^{-1}) of diterpenes in Thailand green Arabica coffee oil (Chiangmai 80 varieties from Chiang Rai 'Wawi' site with C/K *in prior* 0.24) after 300days of storage at 30C and Humidity below than 70%

Storage type	Cafestol (C)	Kahweol (K)	Ratio (C/K)	Total Oil content (%)
Control	1.20	15.05	0.08	6.37
PE	1.77	8.83	0.20	9.34
HDPE	2.26	9.54	0.24	11.95
PP	1.83	10.17	0.18	9.69
PP-seal	1.48	8.57	0.17	7.83
Foil	1.31	6.15	0.20	6.35

6.ปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol พร้อมปัจจัยการคั่วเมล็ดกาแฟภาวะต่างๆที่ส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญ

กรมวิชาการเกษตร

ผลวิเคราะห์ปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol ในกาแฟคั่วจาก 7 สถานที่ปลูกกาแฟที่ได้ทดสอบปริมาณการเปลี่ยนแปลงของสารสำคัญใน 4 ขั้นตอนข้างต้นบ่มเป็นเวลา 10 เดือน ตาม Table 16 ทำการทดสอบการคั่วอ่อนแบบ Light Roast (อุณหภูมิไม่เกิน 180 องศาเซลเซียสเวลา 12 นาที), คั่วกลางแบบ Medium Roast (อุณหภูมิไม่เกิน 220 องศาเซลเซียสเวลา 15 นาที) และคั่วเข้มแบบ Dark Roast (อุณหภูมิไม่เกิน 240 องศาเซลเซียสเวลา 20 นาที) เพื่อลดการเกิดสารกลุ่ม Polycyclic Aromatic Hydrocarbon ที่เป็นสารพิษในการผลิตกาแฟคั่วพบว่าปริมาณสารทั้ง Cafestol และ Kahweol มีปริมาณลดลงเมื่อคั่วกลางแบบ Medium Roast และปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อคั่วเข้มแบบ Dark Roast ทุกตัวอย่างโดยยังพบว่าในกาแฟโรบัสต้า (*C. canephora*) จะพบสาร Kahweol น้อยมากเช่นเดียวกับขั้นตอนอื่นและปริมาณอัตราส่วนของ Cafestol/Kahweol ยังเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในระหว่างสถานที่ปลูกกาแฟโดยสอดคล้องกับ Table 4 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร diterpenes ทั้งสองชนิดนี้ไม่ได้ขึ้นอยู่กับเวลาที่ให้ความร้อนสอดคล้องกับ Eloy Dias,2014 ที่อธิบายว่าสาร diterpenes ทั้งคู่จะสลายตัวเป็น dehydrocafestol และ dehydrokahweol หลังจาก 8 นาทีที่เริ่มคั่วกาแฟที่ร้อยละ 60 – 75 และจะมีปริมาณคงที่ต่อจนจบกระบวนการคั่ว

Table 16 Cafestol and Kahweol ratio in Coffee Roasting during *C. Arabica and C. canephora* in four different regions

Varieties	*Region*	*Cafestol (mg/100g)* [a]			*Kahweol (mg/100g)* [a]		
		Light	Medium	Dark	Light	Medium	Dark
C. Arabica	Khun Wang (Chiang Mai)	285 ± 1	262 ± 16	300 ± 12	986 ± 36	924 ± 18	1,008 ± 28
	Wawi (Chiang Rai)	425 ± 1.5	409 ± 12.9	413 ± 3.4	998 ± 12	978 ± 16.3	982 ± 22
	Phutubberk (Petchabun)	104 ± 10.6	94 ± 13.6	99 ± 14.5	905 ± 21	878 ± 15	885 ± 9
	Khao koh (Petchabun)	687 ± 23.6	664 ± 31.6	670 ± 28.6	803 ± 5	761 ± 35	786 ± 4
	Muser (Tak)	963 ± 13.2	951 ± 12.8	960 ± 9.2	762 ± 13	701 ± 11	762 ± 13
C. canephora	Sawi (Chumporn)	248 ± 25	217 ± 17	223 ± 3	0.91 ± 0.1	0.85 ± 0.1	0.89 ± 0.1
	Than to (Yala)	458 ± 5	417 ± 12	425 ± 11	2.5 ± 0.12	2.1 ± 0.13	2.2 ± 0.14

กรมวิชาการเกษตร

7.ปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol พร้อมปัจจัยการชงกาแฟภาวะต่างๆที่ส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญ

ตาม Table 17 พบว่าผลของขนาดกาแฟบดว่ากาแฟขนาดเล็ก (FINE 200 – 400 um) มีปริมาณสาร diterpenes มากกว่าขนาดที่บดหยาบทั้งนี้สามารถอธิบายได้จากพื้นที่สัมผัสกับการสกัดที่มากกว่าเมื่อบดละเอียดขึ้น

อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบเวลาสกัด (percolation time) พบว่าระยะเวลาของการกาแฟบดละเอียด (FINE) จากใช้เวลา 35 ± 3 วินาที ขณะที่ COARSE ใช้เวลาเพียง 10 ± 3 วินาที ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารประกอบ diterpenes จะมีปริมาณมากเมื่อมีการสกัดที่นานกว่า โดยเมื่อทำการทดสอบเวลาในการสกัดเปรียบเทียบกับการบดระดับเดียวที่ MEDIUM FINE พบปริมาณสารมากที่สุดที่เวลา 25 – 30 วินาที ทั้งนี้สอดคล้องกับผลการทดสอบชิมที่พบว่าหากใช้เวลาสกัดน้อยกว่า 15 วินาทีกาแฟจะมีรสชาติอ่อนและหากเกิน 30 วินาทีรสชาติจะเข้มไป อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณไขมันทั้งหมด (total lipids) ตาม Table 18 ไม่พบปริมาณเปลี่ยนแปลงหลังจากเวลาสกัดที่ 10 วินาทีทั้งนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Caprioli, 2012 ที่ระบุว่าการชงโดยเครื่องเอสเพลสโซนั้นจะมีการสกัดไขมันที่ 10 วินาทีแรกและออกมาเพียงเล็กน้อยหลังจากนั้นโดยหลังจาก 30 วินาทีจะไม่มีไขมันอีกและปริมาณจะลดลงเนื่องจากจะมีน้ำผสมในเครื่องดื่ม ซึ่งกลิ่นรสของกาแฟนั้นจะอยู่ในส่วนของไขมันนี้ดังนั้นผลการทดลองจึงสนับสนุนการพัฒนาการสกัดกาแฟให้ได้ diterpenes สูงและไขมันพอเหมาะที่เวลาระหว่าง 25 – 30 วินาที

Table 17 Cafestol and Kahweol ratio in Coffee Roasting during *C. Arabica* from Chiang Mai (Khun Wang region) using Espresso extraction for 9 bars in grinding scale using Kruve® Scale for categorized coffee particle

Description	*particle size (um)*	*Cafestol (mg/L)*	*Kahweol (mg/L)*	*Ratio C/K*
FINE	200 - 400	23.95	36.71	0.65
MEDIUM FINE	500 - 700	19.65	29.61	0.66
MEDIUM	800 - 1,000	16.06	24.60	0.65
MEDIUM COARSE	1,100 - 1,300	15.85	24.05	0.66
COARSE	1,400 - 1,600	15.49	23.74	0.65

Table 18 Cafestol and Kahweol ratio in Coffee Roasting during *C. Arabica* from Chiang Mai (Khun Wang region) using Espresso extraction for 9 bars in different times of extraction

Brewing time (s)	*Diterpenes*			*Lipids*	
	Cafestol (mg/L)	Kahweol (mg/L)	Ratio C/K	Total Lipids (mg/mL)	Oil Extraction Yields (%)
0	10.58	16.05	0.66	1.70	5.62
5	12.96	19.64	0.66	2.01	6.23
10	15.73	23.65	0.67	2.19	7.91
15	15.97	24.10	0.66	2.52	8.23
20	16.06	24.24	0.66	2.62	9.47
25	18.69	28.63	0.65	2.62	9.51
30	20.10	30.81	0.65	2.66	9.61

8.กรณีศึกษาต่อการเปลี่ยนแปลงสาร Cafestol และ Kahweol ตลอดกระบวนการแปรรูปในพื้นที่ศูนย์การเรียนรู้กาแฟของกรมวิชาการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

จาก Figure 21 ของสรุปผลการเปลี่ยนแปลงของสาร diterpenes ตลอดกระบวนการผลิตกาแฟ ได้นำไปทดสอบเป็นกรณีศึกษา เปรียบเทียบกรณีในพื้นที่ทดสอบจำนวน 7 จังหวัดแบ่งเป็น 6 สถานีทดลองและแปลงเกษตรกรทั้งสิ้น 7 แปลงทดสอบและเครือข่ายพื้นที่ละ 40 แปลง รวม 280 แปลงที่ปลูกกาแฟอะราบิก้า และโรบัสต้าในระดับความสูงตั้งแต่ 0 – 1,200 เมตรจากระดับน้ำทะเล การแปรรูปกาแฟที่แตกต่างกันและกระบวนการที่ได้ปรับเปลี่ยนตามระบบการทำกาแฟพรีเมี่ยมของกรมวิชาการเกษตร โดยรายละเอียดตาม Table 20, 21 พบว่าในพื้นที่จริงมีความหลากหลายในกระบวนการแปรรูปกาแฟตั้งแต่การหมัก กาแฟทำแห้ง การเก็บรักษา การคั่วกาแฟรวมทั้งการชงกาแฟ ทั้งนี้ส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร diterpenes ภาพรวมที่ สองจุดวิกฤตสำคัญตาม Figure 5 คือการทำแห้งกาแฟ และการคั่วกาแฟทั้งนี้ล้วนเป็นขั้นตอนที่มีความร้อนมาเกี่ยวข้อง สำหรับการเก็บรักษากาแฟนั้นเกษตรกรส่วนใหญ่เก็บรักษากาแฟไม่เกิน 6 เดือนทำให้ปริมาณไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากเหมือนในการทดลอง อย่างไรก็ตามอัตราส่วนของสารทั้งสองชนิดกลับมีปริมาณคงที่ ทั้งนี้เมื่อคำนวณอัตราส่วนดังกล่าวพบว่ามีปริมาณคงที่ตั้งแต่การเก็บเกี่ยวซึ่งแสดงให้เห็นว่าอัตลักษณ์กาแฟทั้งกาแฟ *C.arabica* และ *C.canephora* จะแปรผันตรงกับแหล่งผลิตเป็นสำคัญ โดยเฉพาะใน *C.canephora* ที่มีปริมาณ Kahweol ต่ำก็ไม่พบการเพิ่มขึ้นของสารดังกล่าวระหว่างกระบวนการแปรรูปแต่อย่างใด ทั้งนี้อัตราส่วนดังกล่าวที่คงที่ตลอดกระบวนการผลิตนี้ถือเป็นอัตราส่วนสำคัญที่ทางผู้ทดลองเรียกว่าอัตราส่วนทองคำ (golden ratio, Table 19) ซึ่งมักพบในธรรมชาติเพื่อใช้อธิบายอัตลักษณ์ที่สามารถบ่งบอกแหล่งผลิตกาแฟได้นั่นเอง

Table 19 Authentication and Identification compounds (Cafestol and Kahweol) ratio in perisperm tissue during *C. Arabica and C. canephora* fruit development (DAF 120) in different regions

Varieties	*Region*	*Cafestol (mg/100g)* [a]	*Kahweol (mg/100g)* [a]	*Cafestol/ Kahweol Ratio*	*Cupping Score*	*Cupping Characteristics*
C. Arabica	Khun Wang (Chiang Mai)	272.55 ± 29.9	1009.48 ± 71.3	0.27	85 – 87/100	Floral with touch of violet (Geranium)
	Wawi (Chiang Rai)	413.88 ± 30.9	985.43 ± 20.3	0.42	88 – 90/100	Spice with hint of chocolate
	Loei (Loei)	97.90 ± 12.36	890.01 ± 25	0.11	78 – 80/100	Acacia (citrus floral)
	Khao koh (Petchabun)	674.78 ± 25.6	758.18 ± 30.5	0.89	78 – 80/100	Corn and Bittersweet
	Muser (Tak)	943.75 ± 12.8	699.08 ± 12.5	1.35	82 – 85/100	Grain and Citrus-Berry
C. canephora	Sawi (Chumporn)	227.52 ± 37	1.255 ± 0.512	181.29	87 – 91/100	Bergamot and Pepper
	Than to (Satun)	406.27 ± 15.2	2.081 ± 0.122	195.23	78 – 80/100	Cashew nut and Walnut
	Mae Ramad (Tak)	387.09 ± 2.5	4.345 ± 0.13	89.088	78 – 81/100	Peanut and Green pea

Data are means ± standard deviations. DAF, days after flowering; [a] Measurement conducted using gas chromatography analysis.

กรมวิชาการเกษตร

Table 20 Description of Case Studies of variation in 'Premium Coffee Research station' located in seven regions of Thailand observed during 2018 – 2021

หน่วยงาน	แปลงต้นแบบกาแฟ	การใช้ดัชนีเก็บเกี่ยว	บ่อหมักกาแฟ	ลานตากกาแฟ	การเก็บรักษาสารกาแฟ	การคั่วกาแฟ	การคัดเกรดและตรวจประเมิน
ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่	/ (อะราบิก้า)	/ (23 Brix)	/ (4 บ่อ)	โรงตากกาแฟแสงอาทิตย์	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	เครื่องคั่วกาแฟ 10กิโลกรัม และ sampling roaster	/
ศูนย์วิจัยเกษตรที่สูงเชียงราย	/ (อะราบิก้า)	/ (25 Brix)	/ (5 บ่อ)	ลานกาแฟแสงอาทิตย์และเครื่องอบ	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	เครื่องคั่วกาแฟ 10กิโลกรัม และ sampling roaster	/
ศูนย์วิจัยเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์	/ (อะราบิก้า)	/ (18 Brix)	/ (10 ถัง)	โรงตากกาแฟแสงอาทิตย์	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	เครื่องคั่วกาแฟ 10กิโลกรัม	/
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรตาก	/ (อะราบิก้า)	/ (17 Brix)	/ (10 ถัง)	ลานกาแฟแสงอาทิตย์	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	เครื่องคั่วกาแฟ 10กิโลกรัม (ไฟตรง)	/
ศูนย์วิจัยพืชสวนเลย	/ (อะราบิก้า)	/ (18 Brix)	/ (5 ถัง)	ลานกาแฟแสงอาทิตย์	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	-*	/
ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร	/ (โรบัสต้า)	/ (Size 18 cm)	/ (2 บ่อและ 3 ถัง)	ลานกาแฟแสงอาทิตย์	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	เครื่องคั่วกาแฟ 10กิโลกรัม	/
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสตูล	/ (โรบัสต้า)	/ (Size 18 cm)	/ (5 ถัง)	ลานกาแฟแสงอาทิตย์	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	-*	/

กรมวิชาการเกษตร

Table 21 Description of Case Studies of variation in 'Premium Coffee Farm' located in seven regions of Thailand observed during 2018 - 2021

หน่วยงาน	แปลงต้นแบบกาแฟ	การเจริญเติบโตเกี่ยว	บ่อหมักกาแฟ	ลานตากกาแฟ	การเก็บรักษาสารกาแฟ	การคั่วกาแฟ	การทดสอบและตรวจประเมิน
บริษัท Lazy Man Coffee, อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่	/ (อะราบิก้า)	/ (28 – 30 Brix)	/ (4 บ่อ)	โรงตากกาแฟแสงอาทิตย์	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	เครื่องคั่วกาแฟ 10 กิโลกรัม และ sampling roaster	/
ไร่กาแฟจ่านรินทร์, อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์	/ (อะราบิก้า)	/ (21 Brix)	/ (5 บ่อ)	ลานกาแฟแสงอาทิตย์	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	เครื่องคั่วกาแฟ 10 กิโลกรัม และ sampling roaster	/
ไร่กาแฟสิรินยา อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย	/ (อะราบิก้า)	/ (28 - 33 Brix)	/ (10 บ่อ และโรงทดสอบ Anaerobic)	โรงตากกาแฟแสงอาทิตย์ โรงบ่มลมร้อน และ ลานกาแฟแสงอาทิตย์	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	เครื่องคั่วกาแฟ 10กิโลกรัม และ sampling roaster	/
บริษัท Muser Coffee กาแฟสดมูเซอ จังหวัดตาก	/ (อะราบิก้า)	/ (21 Brix)	/ (10 บ่อ)	โรงตากกาแฟแสงอาทิตย์	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	เครื่องคั่วกาแฟ 10กิโลกรัม และ sampling roaster	/
ไร่กาแฟลองเลย จังหวัดเลย	/ (อะราบิก้า)	/ (22 Brix)	/ (10 ถัง)	โรงตากกาแฟแสงอาทิตย์	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	เครื่องคั่วกาแฟ 10กิโลกรัม และ sampling roaster	/
ไร่กาแฟสุพัตรา อำเภอสวี จังหวัดชุมพร	/ (โรบัสต้า)	/ (Size 21 cm)	/ (2 บ่อและ 3 ถัง)	ลานกาแฟแสงอาทิตย์	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	เครื่องคั่วกาแฟไฟตรง	/
วิสาหกิจชุมชนบ้านโดนปาหนัน อ.ควนกาหลง จังหวัดสตูล	/ (โรบัสต้า)	/ (Size 18 cm)	/ (2 บ่อและ 3 ถัง)	ลานกาแฟแสงอาทิตย์	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	เครื่องคั่วกาแฟ 10กิโลกรัม	/
บริษัท We wish อำเภอแม่ระมาด จังหวัดตาก	/ (โรบัสต้า และอะราบิก้า)	/ (Size 18 cm)	/ 5 บ่อ)	โรงตากกาแฟแสงอาทิตย์, ลานกาแฟแสงอาทิตย์	โรงเก็บควบคุมความชื้น + ถุง HDPE	เครื่องคั่วกาแฟ 10กิโลกรัม และ sampling roaster	/

กรมวิชาการเกษตร

Figure 21 Summarize of Diterpenes variation during coffee processing life cycle with the critical point of diterpenes amounts which refered to different processing techniques

ศูนย์วิทยทรัพยากร

3.2 ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง (Output)

ผลผลิตตามคำรับรอง	จำนวน	หน่วยนับ	ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง	จำนวน	หน่วยนับ	รายละเอียดผลผลิต (พร้อมแนบหลักฐาน)	เชิงคุณภาพ
1. องค์ความรู้	**3**	เรื่อง	**1. องค์ความรู้**	3	เรื่อง	1. การใช้ประโยชน์จากน้ำหมักกาแฟเพื่อการผลิตกาแฟอาราบิก้าคุณภาพในการจัดการผลิตแบบ Zero waste process และกระบวนการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการหมักกาแฟ 2. การหมักเมือกกาแฟในระบบจำลองทางเดินอาหารสัตว์อย่างมีประสิทธิภาพ 3. ข้อมูลความสัมพันธ์ปริมาณอัตราเฉพาะของ Cafestol และ Kahweol ในพื้นที่กาแฟอาราบิก้าภาคเหนือ ภาคตะวันออกและภาคใต้ ตลอดกระบวนการผลิตกาแฟตั้งแต่กระบวนการเก็บเกี่ยวถึงชงกาแฟ	
2. ต้นแบบผลิตภัณฑ์			**2. ต้นแบบผลิตภัณฑ์**				
2.1 ระดับภาคสนาม	2	ต้นแบบ	2.1 ระดับภาคสนาม	4	ต้นแบบ	1. เทคโนโลยีการใช้น้ำหมักซ้ำและการบำบัด 2. เทคโนโลยีการเคลือบผิวส้มโดยเพคตินจากเปลือกกาแฟ 3. เทคโนโลยีการหมักในระบบจำลองทางเดินอาหารสัตว์อย่างมีประสิทธิภาพ 4. ความสัมพันธ์ปริมาณอัตราเฉพาะของสารคาเฟสทอลและคาเวออลตลอดกระบวนการผลิตกาแฟตั้งแต่กระบวนการเก็บเกี่ยวถึงชงกาแฟ	
3. กิจกรรมสร้างการมีส่วนร่วม (Engagement activities)	1	ครั้ง	**3. กิจกรรมสร้างการมีส่วนร่วม** (Engagement activities)	2	ครั้ง	การถ่ายทอดเทคโนโลยีสามารถพัฒนาเกษตรกรสู่ผู้ประกอบการขั้นต้นได้ พร้อมยกระดับอุตสาหกรรมกาแฟคุณภาพกาแฟสู่มาตรฐานสากลได้รับการยอมรับตอบโจทย์การพัฒนาการผลิตกาแฟพิเศษแบบครบวงจร	

กรมวิชาการเกษตร

3.3 ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง (Outcome) (ถ้ามี)

ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลลัพธ์
- มีการนำผลพลอยได้จากการหมักกาแฟอะราบิก้าและโรบัสต้าในพื้นที่ทดลอง (เชียงใหม่, เชียงราย, ตาก, เพชรบูรณ์ และชุมพร) ได้แก่ เปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟ เมือกกาแฟและน้ำเสียไปใช้ประโยชน์ ได้แก่ การผลิตผลิตภัณฑ์ชา การทดสอบเคลือบส้มด้วยเพคตินจากเมือก และการใช้น้ำซ้ำเพื่อลดต้นทุนการผลิต แรงงานและวัตถุดิบ พร้อมทั้งพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่จากสารสำคัญในด้านอุตสาหกรรมอาหารและการเกษตรแล้วถ่ายทอดได้(ผลสำเร็จระดับ P) - ลดปัญหาขยะและเพิ่มรายได้เกษตรกรอย่างยั่งยืน โดยส่งเสริมและประชาสัมพันธ์เอกลักษณ์ กรรมวิธีการหมักกาแฟอาราบิก้าคุณภาพที่รวดเร็วต้นทุนต่ำและนำไปใช้ประโยชน์และยอมรับในวงกว้าง พร้อมทั้งนำเสนอความคิดใหม่ในการพัฒนากาหมักกาแฟอาราบิก้าคุณภาพดังกล่าวเพื่อเป็นทางเลือกที่ทำรายได้ให้กับเกษตรกรต่อไป (ผลสำเร็จระดับ G) - ปรับปรุงต้นทุนการผลิตกาแฟพร้อมประชาสัมพันธ์ข้อมูลอัตลักษณ์กาแฟไทยพื้นฐานในแต่ละท้องถิ่น และเพื่อจัดทำฐานข้อมูลในการสร้างมาตรฐานในการผลิตกาแฟที่เหมาะสมของประเทศไทย โดยเฉพาะอัตราส่วนที่เหมาะสมของปริมาณสาร Cafestol/Kahweol ตลอดกระบวนการผลิตกาแฟคุณภาพ และอัตราส่วนเฉพาะของการผลิตกาแฟเฉพาะถิ่นเพื่อควบคุมคุณภาพการผลิตกาแฟของประเทศ (ผลสำเร็จระดับ G)	2564 - 2565

3.4 ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง (Impact) (ถ้ามี)

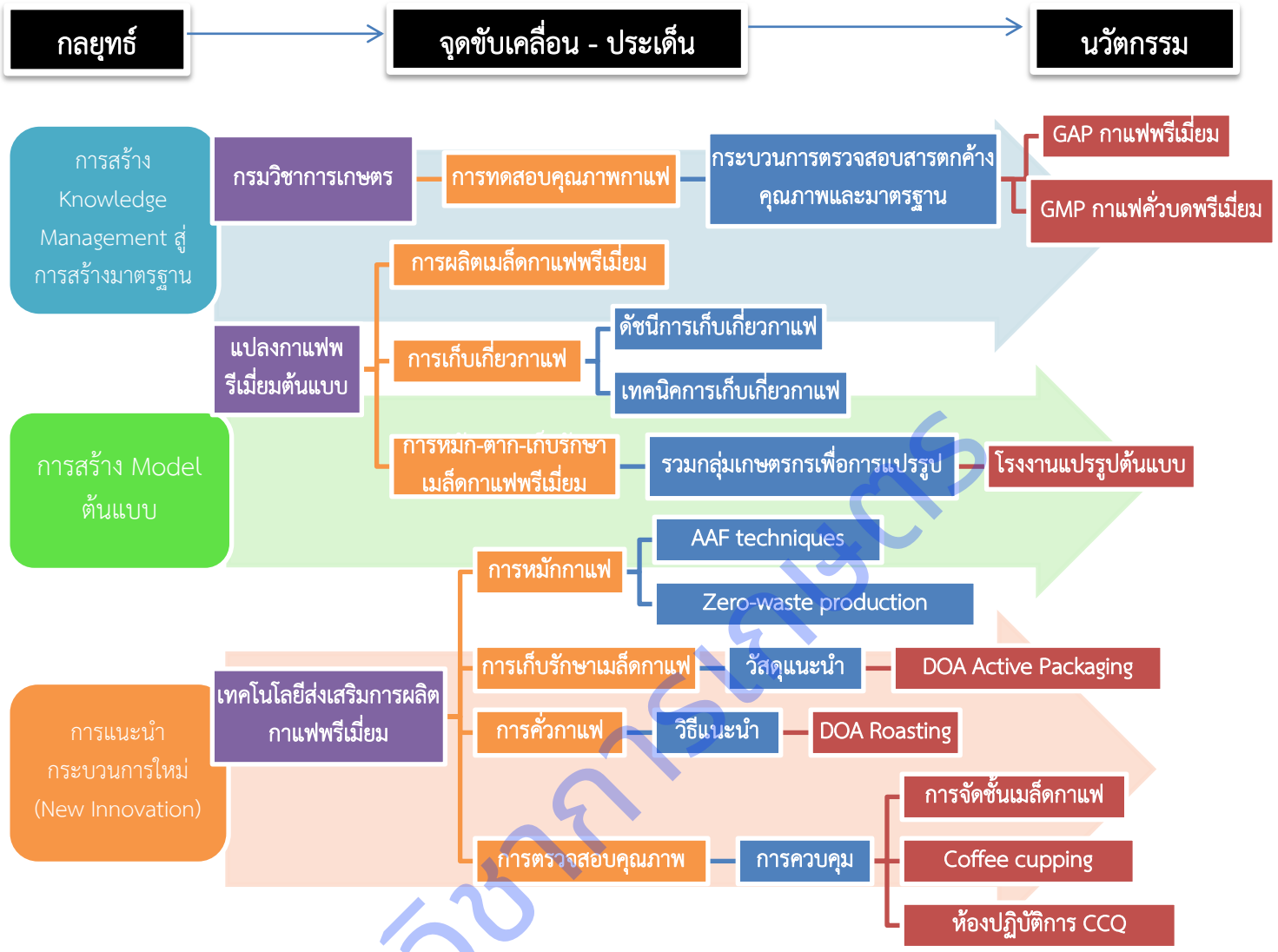
ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลกระทบ
ด้านเศรษฐกิจ : เพิ่มมูลค่ากาแฟ โดยใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือใช้ส่วนที่เหลือไม่น้อยกว่าร้อยละ 60 สู่ผลิตภัณฑ์สารเคลือบและการใช้ซ้ำลดต้นทุนการผลิตทรัพยากรไม่น้อยกว่าร้อยละ 20 และทรัพยากรน้ำที่ (1 กิโลกรัมกาแฟ ต่อน้ำ 1.8 ลิตรจาก 20 - 200 ลิตร)	2565 -2566
ด้านสังคม : ส่งเสริมวิถีเกษตรวัฒนธรรมให้ชุมชนตระหนักถึงความสำคัญของชุมชนเพื่อการใช้ประโยชน์โดยใช้ความรู้สารบ่งบอกอัตลักษณ์ (Cafestol/Kahweol)เพื่อส่งเสริมภาพลักษณ์การพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์ป้องกันการละเมิดสิทธิ์ชุมชน	2565 – 2567
ด้านสิ่งแวดล้อม : พัฒนาระบบการผลิตกาแฟสู่การใช้ประโยชน์จากฐานเศรษฐกิจชีวภาพการพัฒนาระบบธุรกิจปิดวงจร (BCG for Close-loop Economy) และต่อยอดในปี 2567 – 2570 พร้อมส่งเสริมการพัฒนาทักษะสีเขียว (green skills) ร่วมกับโครงการ UN-PAGE ในการจัดตั้งหลักสูตรการผลิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม	2566 – 2567

3.5 การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

วิธีการ/กระบวนการผลักดันงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ นำความรู้ไปถ่ายทอดในโครงการเพิ่มมูลค่าสินค้ากาแฟพรีเมี่ยมอัตลักษณ์เพื่อการรับรองสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์จึงเป็นโครงการขับเคลื่อนที่จะพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกาแฟอาราบิก้าและโรบัสต้าให้ได้ประสิทธิภาพ ซึ่งถือเป็นโอกาสที่ดีสาหรับเกษตรกรและผู้ประกอบการในอุตสาหกรรมธุรกิจการส่งออกกาแฟในประเทศไทย โดยมุ่งหวังจัดตั้งศูนย์พัฒนาความเป็นเลิศด้านกาแฟ “Certified Coffee Quality Laboratory” (CCQ Thailand) เพื่อเป็นสื่อกลางในแลกเปลี่ยนข้อมูลและเผยแพร่นวัตกรรมใหม่ๆสู่ผู้ประกอบการ กอปรทั้งการนำไปใช้ประโยชน์ นอกจากนี้ยังมีความมุ่งมั่นในการส่งเสริมการสร้างคุณภาพให้ผลิตภัณฑ์กาแฟโดยกิจกรรมการสัมมนาและเสวนาโต๊ะกลมจากผู้มีประสบการณ์และการลงมือปฏิบัติจริง พร้อมสร้างเครือข่ายผู้ประกอบการกาแฟไทยให้แข็งแกร่งยิ่งขึ้น

กรมวิชาการเกษตร

แนวทางการดำเนินการเพิ่มประสิทธิภาพกาแฟพรีเมี่ยมไทย



ด้านนโยบาย โดยกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ร่วมกับภาคการเกษตรและรัฐบาล

อย่างไร จัดทำยุทธศาสตร์กาแฟและเสนอโครงการสำคัญ (flagship) เพื่อดำเนินต่อในปี 2566 - 2570

ด้านสังคม โดยเกษตรกรและผู้ประกอบกอบการในพื้นที่ปลูกกาแฟอะราบิกาและโรบัสต้าขยายผลไม่ต่ำกว่า 13 จังหวัด

อย่างไร การปรับเปลี่ยนระบบการผลิตกาแฟที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมตรวจสอบย้อนกลับและรับรองแหล่งผลิต

ด้านเศรษฐกิจ โดย เกษตรในที่เข้าร่วมโครงการสามารถผลิตกาแฟคุณภาพและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

อย่างไร เกษตรกรที่เข้าร่วมโครงการกาแฟพรีเมี่ยมชนะการประกวดในงาน Thai Excellence Coffee 2021

ด้านวิชาการ โดย เกษตรกร นักวิชาการ ผู้ประกอบการและผู้สนใจ

อย่างไร ได้นำองค์ความรู้ไปใช้ประโยชน์เชิงประจักษ์ในการตรวจสอบย้อนกลับแหล่งผลิตกาแฟ

บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล

กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลและอภิปรายผล

สรุปผล

การใช้ประโยชน์จากผลิตผลพลอยได้จากการหมักกาแฟทั้งสามชนิดในกระบวนการผลิตกาแฟเพื่อเพิ่มมูลค่านั้นเป็นทางเลือกการเพิ่มรายได้จากวัสดุเหลือใช้ ตั้งแต่การใช้เปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟที่มีปริมาณไนโตรเจนและไฟเบอร์สูงในการพัฒนาชีวภัณฑ์ป้องกันโรคแอนแทรคโนสในต้นกาแฟโดยการหมักแบบแห้งด้วย *A. niger* และการหมักกรดซิตริกด้วย *Steptococcus spp.* เพื่อพัฒนาเป็นสารปรุงรสอาหารได้แก่ซฮส, ผงปรุงรสและแป้งเปลือกกาแฟ นอกจากนี้เมือกกาแฟและน้ำหมักกาแฟที่มีปริมาณเพคตินสูงสามารถนำไปทดสอบสกัดเพคตินที่เป็นชนิด High Methoxy Pectin ที่ใช้ผสมกับสูตรเคลือบปกติกับ canauba wax ใช้เคลือบส้มให้ยืดอายุได้อย่างน้อย 10 วัน สำหรับน้ำหมักที่มีการทดสอบการใช้ซ้ำนั้นผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสามารถใช้ซ้ำได้อย่างน้อยสามครั้ง ก่อนจะทำการบำบัดซึ่งน้ำหมักกาแฟมีความจำเป็นต้องเข้าสู่ระบบบำบัดที่ได้พัฒนามาทั้งสิ้น 5 ขั้นตอนตั้งแต่ถังพัก ถังตกตะกอน ถังกรอง ถังเติมอากาศและบ่อบำบัดพืชซึ่งผลการทดสอบบำบัดทั้งในห้องปฏิบัติการและแปลงทดสอบพบว่าสามารถทำให้น้ำหมักกาแฟสามารถผ่านมาตรฐานกรมโรงงานอุตสาหกรรมและปล่อยสู่ธรรมชาติได้ ซึ่งการนำวัสดุเหลือใช้ทั้งหมดนี้ถือเป็นการสร้างรายได้เพิ่มขึ้นแก่เกษตรกรผู้แปรรูปกาแฟเพื่อใช้ประโยชน์ในชุมชน นอกจากนั้นยังลดมลพิษทางสิ่งแวดล้อมจากการทิ้งวัสดุเหลือใช้ทั้งหมดที่ปัจจุบันสร้างความขัดแย้งให้ชุมชนอย่างมากก่อให้เกิดข้อพิพาทที่สำคัญของผู้ประกอบการกาแฟและชุมชนรอบข้างทั้งนี้งานวิจัยชิ้นนี้มุ่งสร้างทางเลือกที่สามารถสร้างรายได้ที่ยั่งยืนและลดปัญหามลภาวะทางสิ่งแวดล้อมส่งเสริมการผลิตกาแฟที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมที่ยั่งยืน

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการหมักกาแฟโดยจำลองแบบระบบย่อยอาหารของสัตว์ เพื่อพัฒนาคุณภาพของกาแฟให้มีความแตกต่างจากการหมักกาแฟแบบดั้งเดิม ลดการทรมานสัตว์ โดยขอบเขตของผลการวิจัยประกอบด้วย จากผลการคัดแยกจุลินทรีย์พบว่าในขี้ชะมดประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ได้แก่แบคทีเรียแลคติก *Lactobacillus plantarum* และยีสต์ *Pichia kudriavzevii* เป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อการหมักกาแฟ และจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด จากผลสอบการหมักแสดงให้เห็นว่าการเติมจุลินทรีย์ผสมกับเอนไซม์เปปซิน เอนไซม์จากตับอ่อน (pancreatin) และ การปรับ pH ในระบบการหมัก มีผลต่อการพัฒนาคุณภาพของกาแฟให้แตกต่างจากการหมักกาแฟแบบเดิม และเพิ่มความซับซ้อนของกลิ่นรสกาแฟเพิ่มมาก แต่ยังมีความเปรี้ยวในกาแฟคั่วและรสชาติค้างในปาก (Aftertaste) ต่ำกว่ากาแฟขี้ชะมด โดยการปรับ pH เริ่มต้นให้อยู่ในช่วง pH 2-3 โดยกรดไฮโดรคลอริก เพิ่มความซับซ้อนของกลิ่นรสได้ดี แสดงให้เห็นว่าการย่อยโครงสร้างของกาแฟด้วยกรดช่วยสารตั้งต้นกลิ่นรสในกาแฟได้ และเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการหมักพบว่าการเพิ่มเวลาในการหมักจะส่งผลต่อการเพิ่มความซับซ้อนของกลิ่นรสกาแฟยิ่งขึ้น โดยเวลาที่เหมาะสม คือ หมักกาแฟนาน 24 ชั่วโมง การหมักกาแฟโดยจำลองระบบการย่อยอาหารสัตว์สามารถปรับระดับความเข้มข้นของสารเคมีในกาแฟ ได้แก่ Pyrazine, 2,6-dimethyl และ 2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl ซึ่งให้กลิ่นในกลุ่มของถั่ว และ 2-Furanmethanol, acetate และ 2-Methoxy-4-vinylphenol ซึ่งให้กลิ่นในกลุ่มผลไม้ และกลิ่นโทนหวานให้เพิ่มขึ้นให้มีปริมาณใกล้เคียงกับกาแฟขี้ชะมดได้

สารประกอบกลุ่ม diterpenes สามารถใช้ในการจำแนกอัตลักษณ์กาแฟตามหลักการของ chemometric กล่าวคือกลุ่มสารให้กลิ่นในกาแฟที่อยู่ในส่วนของกรดไขมันในกาแฟ อีกทั้งสารกลุ่มนี้ยังส่งผลต่อคุณภาพกาแฟทั้ง *C. arabica* และ *C. canephora* ทั้งนี้ผลการทดลองชี้ให้เห็นถึงปริมาณของ diterpenes ที่แปรผันตามแหล่งเพาะปลูกกาแฟระหว่างร้อยละ 18.9 สำหรับกาแฟในประเทศไทยรวมทั้งกระบวนการแปรรูปกาแฟยังส่งผลต่อปริมาณของสารที่แตกต่างกันโดยเฉพาะขั้นตอนที่มีความร้อนเกี่ยวข้องได้แก่ การตาก การเก็บรักษา การคั่วและการชงกาแฟ ทั้งนี้เพื่อควบคุณภาพของกาแฟให้สม่ำเสมอจึงจำเป็นต้องรักษาระดับของปริมาณสารดังกล่าวโดยการไม่ทำแห้งสารกาแฟเกินอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส การเก็บรักษาสารกาแฟในถุงชนิด HDPE การคั่วกาแฟที่ใช้เวลาไม่น้อยกว่า 8 นาทีและการชงกาแฟที่ 25 – 30 วินาที

โดยเมื่อพิจารณาลงลึกถึงอัตราส่วนระหว่างสาร Cafestol และ Kahweol ที่เป็นสารประกอบหลักกลับพบว่าอัตราส่วนดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากหลังจากเก็บเกี่ยวหรือแทบจะคงที่ อัตราส่วนดังกล่าวนี้จึงสามารถใช้จำแนกอัตลักษณ์กาแฟเพื่อการตรวจสอบย้อนกลับสินค้ากาแฟในการค้นหาแหล่งผลิตโดยเฉพาะการจำแนกอัตราการผสมระหว่างกาแฟสายพันธุ์

เศรษฐกิจหลักทั้ง *C. arabica* และ *C. canephora* โดยสาร Kahweol ที่จะพบปริมาณมากในกาแฟอะราบิก้าและน้อยมากหรือแทบไม่มีในกาแฟโรบัสต้า ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่ากระบวนการผลิตกาแฟตั้งแต่การเพาะปลูกที่เริ่มมีการสะสมปริมาณสารทั้งสองชนิดตั้งแต่วันที่ 90 หลังดอกบาน (DAF90) ในพื้นที่เพาะปลูกกาแฟที่ระดับความสูงแตกต่างกัน ส่งผลถึงอุณหภูมิพื้นที่เพาะปลูกและปริมาณน้ำฝนที่ทำให้อัตราส่วนของสารทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันตามแหล่งผลิตกาแฟ แต่เมื่อเข้าสู่กระบวนการแปรรูปแม้จะมีการเปลี่ยนแปลงในด้านปริมาณของสารทั้งสองชนิดจากปัจจัยสำคัญคือความร้อน ในกระบวนการทำแห้ง กระบวนการเก็บรักษากาแฟในบรรจุภัณฑ์ต่างชนิด การคั่วกาแฟรวมถึงการชงกาแฟ โดยเมื่อกาแฟผ่านความร้อนสูงพบการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารทั้งสองชนิดสูงขึ้นซึ่งเป็นไปในลักษณะคู่ขนาน ทำให้ตอบโจทย์สมมติฐานของหลักการใช้ chemometric ของ diterpenes ในกาแฟเพื่อใช้ในการตรวจสอบย้อนกลับของสินค้ากาแฟ

ในการทดสอบระดับแปลงทดสอบเพื่อเป็นกรณีศึกษาในพื้นที่ 7 จังหวัดในประเทศไทยก็ยังพบว่าปริมาณสาร diterpenes ยังสามารถตอบโจทย์เพื่อใช้ระบุแหล่งกำเนิดหรืออัตลักษณ์กาแฟ โดยจุดวิกฤตที่สำคัญนั้นยังเป็นกระบวนการที่ทางเกษตรกรให้ความร้อนในเมล็ดกาแฟและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารและคุณภาพของเมล็ดทำให้เกิดลักษณะเฉพาะตัว แต่อัตราส่วนของ Cafestol และ Kahweol นั้นยังคงที่ไม่เปลี่ยนแปลง อาจกล่าวได้ว่าอัตราส่วนดังกล่าวถือเป็นอัตราส่วนทองคำ (golden ratio) ที่เป็นสิ่งที่พบในธรรมชาติทั่วไปเพื่อใช้ระบุถึงอัตลักษณ์แหล่งกำเนิด กำกับอัตลักษณ์ของกาแฟและบ่งบอกคุณภาพ จึงถือเป็นต้นแบบการควบคุมแหล่งผลิตและกระบวนการผลิตกาแฟสู่การควบคุมคุณภาพอีกทั้งกำหนดอัตลักษณ์ของกาแฟเฉพาะถิ่นที่พัฒนาต่อยอดได้เพื่อความมั่นใจในการซื้อขายและการบริโภคกาแฟสำหรับตลาดกาแฟในปัจจุบันที่มีการแข่งขันการผลิตกาแฟและกลยุทธ์การตลาดที่เปลี่ยนแปลงตลอดเวลา

อภิปรายผล

- ได้เทคโนโลยีการนำผลิตผลพลอยได้จากกระบวนการหมักกาแฟมาใช้ประโยชน์ ได้แก่ เมือกกาแฟรวมทั้งน้ำเสียจากการหมักกาแฟ โดยมุ่งให้ผู้ประกอบการด้านกาแฟสร้างมูลค่าเพิ่มจากวัสดุผลิตผลพลอยได้ในรูปแบบกระบวนการแปรรูปสารสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร การเกษตรและส่งเสริมการผลิตเพื่อมุ่งสู่กระบวนการ Zero waste process ของกระบวนการผลิตกาแฟอะราบิก้าคุณภาพ

- ได้ข้อมูลกระบวนการหมักและกระบวนการหมักกาแฟอะราบิก้าแนวทางใหม่โดยเทคนิคการหมักกาแฟโดยเลียนแบบทางเดินอาหารสัตว์ ที่มีผลต่อคุณภาพกลิ่นรส ลดต้นทุนและเวลาการผลิต เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาหรือพัฒนาการผลิตกาแฟในระดับอุตสาหกรรมต่อไป โดยมุ่งเน้นส่งเสริมให้เกษตรกรผู้ผลิตกาแฟอาราบิก้าให้ความสำคัญในกระบวนการหมักกาแฟอาราบิก้าเพื่อรักษาคุณภาพและลดสารตกค้างระหว่างการผลิต

- ได้ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารสำคัญกลุ่ม Cafestol และ Kahweol ตั้งแต่ระยะการเก็บรักษาเมล็ดกาแฟ การคั่วกาแฟและการชงกาแฟตลอดกระบวนการแปรรูปและระบุอัตราส่วนเฉพาะเพื่อส่งเสริมการผลิตกาแฟคุณภาพเฉพาะถิ่นได้และการนำไปใช้ประโยชน์ในการตรวจสอบกาแฟเฉพาะถิ่นได้

กรมวิชาการเกษตร

ภาพ สรุปผลการนำไปใช้ประโยชน์จากโครงการการวิจัยและพัฒนากระบวนการหมักกาแฟอาราบิก้าและการใช้ผลิตผลพลอยได้

ข้อเสนอแนะต่อผู้เกี่ยวข้องสำหรับการดำเนินงานในระยะต่อไป

งานวิจัยต่อยอดควรมุ่งเน้นถึงการพัฒนานวัตกรรมการหมักกาแฟที่หลากหลายเพิ่มขึ้น การค้นหาเชื้อจุลินทรีย์ใหม่ การพัฒนากระบวนการให้เกิดกลิ่นรสใหม่รวมทั้งการใช้วัสดุเหลือใช้จากการหมักสู่การใช้ประโยชน์และการตรวจสอบย้อนกลับผลิตภัณฑ์กาแฟโดยหลักการทาง Chemometrics ที่เป็นหลักการใหม่เพื่อการพัฒนากระบวนการตรวจสอบทางชีวเคมีแทนการใช้เทคโนโลยีทางพันธุศาสตร์ที่มีต้นทุนสูง

ปัญหาและอุปสรรคในการทำงาน

ปัญหาด้านการแพร่ระบาดของไวรัสโควิด-19 ทำให้การเดินทางในพื้นที่ทดสอบเกิดปัญหาและแผนการทำงานประสบปัญหาอย่างไรก็ตามผู้ทดลองสามารถวางแผนการดำเนินงานและรวบรวมผลได้โดยความร่วมมือของเครือข่ายวิจัยและเกษตรกรในโครงการที่อำนวยความสะดวกเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร

โกเมศ สัตยาวุธ, ปิยนุช นาคะ และมาโนช หาญเทวี. 2554. ปริมาณสารไพรีนและผลต่อความขมของกาแฟคั่วบดในประเทศไทย; ประชุมวิชาการกาแฟแห่งชาติครั้งที่ ๑ โรงแรมฮอล์ลิเดย์อินน์ จังหวัดเชียงใหม่, 12 หน้า.

โกเมศ สัตยาวุธ, วิมลวรรณ วัฒนวิจิตร, ปิยนุช นาคะ, มาโนช หาญเทวี และสรัญญา อุปรักขิตานนท์, 2556. การผลิตกาแฟที่มีสารกลุ่ม Polycyclic Aromatic Hydrocarbon ต่ำ. รายงานการประชุมวิชาการสำนักวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร โรงแรมชะอำบีสรีสอร์ท จังหวัดเพชรบุรี, 15 หน้า.

โกเมศ สัตยาวุธ, สุกัญญา นิติยนต์, ฉัตรนภา ข่มอาวุธ, สุภัทรา เลิศวัฒนาเกียรติ. 2561. การวิจัยและพัฒนาการหมักกาแฟอะราบิก้าโดยจุลินทรีย์, รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2561, กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 18 หน้า

จิรสวัสดิ์ ภูวิภิรมย์. 2546. ปัจจัยการผลิตที่มีผลต่อสารให้กลิ่นรสของกาแฟผสมแบบไทย. บัณฑิตวิทยาลัย, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร, ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 7 หน้า.

นนทวัชร ชิตวิลัย. 2547. การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบระเหย และกรดอินทรีย์ระหว่างกระบวนการหมักของกาแฟอาราบิก้าที่ปลูกในประเทศไทย. บัณฑิตวิทยาลัย, สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร, ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร, มหาวิทยาลัยศิลปากร. 8 หน้า

ปิยะมาศ ศรีรัตน์, ปิยะนุช นาคะ และอรพิน ภูมิภมร. 2551. ผลของการสีเปลือกนอกของผลกาแฟและการสลายเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟด้วยเอนไซม์เพคติเนสต่อระยะเวลาการอบแห้งและคุณภาพของเมล็ดกาแฟพันธุ์โรบัสต้า. วารสาร วิทยาศาสตร์เกษตร. 39(3), 401-404.

พิทักษ์ อาภาศิริผล. 2529). *คำแนะนำการปลูกกาแฟ*. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

พัชนี สุวรรณวิศาลกิจ. 2545. กาแฟคั่ว. วารสารอาหาร: เรื่องของกาแฟที่คุณไม่อาจรู้. วันที่ค้นข้อมูล 10 กุมภาพันธ์ 2556, เข้าถึงจาก http://www.nescafe.co.th/coffee_abc_th_th.axcms

ไพฑูรย์ หมายมั่นสมสุข. 2535. คู่มือวิเคราะห์น้ำเสีย. สมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมไทยและ World Environment Center, พิมพ์ครั้งที่ 2.

ศูนย์วิจัยและพัฒนากาแฟบนที่สูง. 2542. การปลูกกาแฟและผลิตกาแฟอาราบิก้าบนที่สูง. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

สาวิตรี ลิ่มทอง. 2549. ยีสต์: ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุกัญญา นิติยนต์, โกเมศ สัตยาวุธ, ฉัตรนภา ข่มอาวุธ, สุภัทรา เลิศวัฒนาเกียรติ. 2562. การศึกษาการหมักกาแฟด้วยจุลินทรีย์ในระบบแอนแอโรบิก (ไม่ใช้ออกซิเจน), รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2562, กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร

Aprotosoaie, A.C., Luca S.V. and A., Miron. 2015. Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products-An Overview. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 15,73-91.

Avallone, S., Brillouet, J.M., Guyot, B., Olguin, E. and J.P Guiraud. 2001. Microbiological and biochemical study of coffee fermentation. *Current Microbiology*, 42, 252-256.

Avallone, S., Brillouet, J.M., Guyot, B., Olguin, E. and J.P Guiraud. 2002. Involvement of pectolytic micro-organisms in coffee fermentation. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 191-198.

Bartlett, M.C. and P. Gerhardt. 1989. Continuous Antibiotic Fermentation – Design of a 20 litre, Single-stage Pilot plant and trials with two contrasting process, journal of Biochemical and microbiological technology and engineering, Vol I, No.4: 359-377.

Batista, N., Ramos, C., Dias, D., Pinheiro, A. and R. Schwan. 2015. Dynamic behavior of *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kluyveri* and *Hanseniaspora uvarum* during spontaneous and inoculated cocoa fermentations and their effect on sensory characteristics of chocolate. *LWT - Food Science and Technology*. 63(1), 221-227

กรมวิชาการเกษตร

Caprioli, G., Cortese M., Cristalli G., Maggi F., Odello L., Ricciutelli M., Sagratini G., Sirocchi V., Tomassoni G. & S. Vittori. 2012. Optimization of espresso machine parameters through the analysis of coffee odorants by HS-SPME-GC/MS. J. Food Chemistry 135(3):1127-1133.

Cavin, C., Mace, K., Offord, E.A. & B. Schilter. 2001. Protective effects of coffee diterpenes against aflatoxin B1-induced genotoxicity : mechanisms in rat and human cells. Food Chem Toxicol. 39(6):549-56.

Clarke, R.J. 1986. The Flavour of Coffee. Department of Food Science. University of Reading, UK. 1-47 p.

Crafack, M., Mikkelsen, M., Saerens, S., Knudsen, M., Blennow, A., *et. al* (2013). Influencing cocoa flavour using *Pichia kluyveri* and *Kluyveromyces marxianus* in a defined mixed starter culture for cocoa fermentation. *International journal of food microbiology.* 167(1), 103-16.

Eloy Dias R.C, A. Ferreira de Faria-Machado, A. Zerlotti Mercadante, N. Bragagnolo and M. de Toledo Benassi. (2014). Roasting Process affects the profile of diterpenes in coffee. Eur. Food Res. Technol. DOI 10.1007/s00217-014-2293.

Fitri, Tawali, A.B. and A. Laga. 2019. Luwak coffee in vitro fermentation: literature review. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 230. 012096. 10.1088/1755-1315/230/1/012096.

Flament, I. 2002. Coffee Flavor Chemistry. UK: John Wiley & Sons, Ltd. 396 pp.

Franca, A.S. Mendonca, JCF. and S.D. Oliveira. 2005. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. LWT, 38, 709–715.

Gokulakrishnan, S. Chandraraj, K. and S.N. Gummadi. 2005. Microbial and enzymatic methods for the removal of caffeine. Enzyme and Microbial Technology, 37, 225–232.

Gonzalez-Rios, O. Suarez-Quiroz M. Renaud, B. and S. Schorr-Galindo. 2007. Impact of "ecological" post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee. J. Food Comp. and Ana. 20(3):289-296.

Gordon, R.E., & Mihm, J.M. (1962). Identification of Nocardia caviae (Erickson) nov. comb. Annals of the New York Academy of Sciences 98, 628-636.

Hadipernata, M. and S. Nugraha. 2018. Process technology of luwak coffee through bioreactor utilization. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 102. 012092. 10.1088/1755-1315/102/1/012092.

Jagani, H. Hebber, K. Gang, S.S. Vasath Raj P. Chandrashekhar, R. and J. Venkata. 2010. An overview of fermenter and the design considerations to enhance its productivity. Pharmacologyonline 1:261-301.

Jumhawan, U., Putri, P.P., Yusianto, Marwani, E., Bamba, T. and E Fukusaki. 2013. Selection of Discriminant Markers for Authentication of Asian Palm Civet Coffee (Kopi Luwak): A Metabolomics Approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (33), 7994-8001.

López-Galilea, I. Fournier, N. Cid, C. and E. Guichard. 2006. Changes in headspace volatile concentrations of coffee brews caused by the roasting process and the brewing procedure. J Agric Food Chem. 1;54(22):8560-6.

Massimo, M.F. 2004. Composition and properties of Indonesian plam civet coffee (Kopi Luwak) and Ethiopian civet coffee, *Food Research Intenational*, 37, 901-912

Mondello, L. Costa, R. Tranchida P.Q. Dugo, P. Presti M.L. Festa, S. Fazio, A. and G. Dugo. 2005. Reliable characterization of coffee bean aroma profiles by automated headspace solid phase microextraction gas chromatography-mass spectrophotometry with the support of a dual-filter mass spectra library. J. Seperation science. 28(9-10):1101-9.

ศูนย์วิทยทรัพยากร

Moon, J.K. and T. Shibamoto. 2009. Role of roasting conditions in the profile of volatile flavor chemicals formed from coffee beans. J. Agric. Food. Chem. 57(13):5823-31.

Muzaifa, M., Hasni, D., Patria, A. Febriani and A. Abubakar. 2018. Sensory and microbial characteristics of Civet coffee. International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology. 8. 165-171.

Nasanit R., and K. Satayawut. 2014. Microbial communities during wet fermentation process of Coffea Arabica var. chiangmai 80. Kasetsart Journal-Natural Science. 49. 32-41.

Nebesny, E. Budryn, G. Kula, J. and T. Majda. 2007. The effect of roasting method on headspace composition of robusta coffee bean aroma. European Food research and technology. 255(1):9-19.

Paek, K.Y. Chakrabarty D. and E.J. Hahn. 2005. Application of bioreactor systems for large scale production of horticultural and medicinal plants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 81, 287-300.

Pandey, A. Soccol, CR. Nigam, P. Brand, D. Mohan, R. and S. Roussos. 2000. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. Biochemical Engineering Journal, 6, 153–162.

Padmapriya, R. 2013. Coffee waste management- An overview. *International Journal of Current Science, vol.9,* pp. 83-91.

Silva, C.F., Vilela, D.M., Cordeiro, C.L.D.S., Duarte, W.F., Dias, D.R., and R.F., Schwan. 2013. Evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation. World J Microbiol Biotechnol, 29, 235–247.

Sivetz, M. and H.E. Foote. 1963. Coffee Processing Technology. Vol 1: Fruit-Green, Roast and soluble Coffee. London. 598 p.

Smith, A.W. 1985. Introduction in coffee, chapter 1. *In* R.J. Clarke and R. Macrae, eds. Coffee Volume 1: Chemistry. Elvevier Applied Sience Publisher Ltd.

Suhandono, S., Setiadi, H., Kristianti, T., Kusuma, A.B., Wedaringtyas, A.W., Djajadi, D.T., and I. Aryantha. 2016. Diversity of Culturable Bacterial in Various Parts of Luwak's (*Paradoxurus hermaprodithus javanica*) Gastrointestinal Tract. Microbiology Indonesia, 10, 4.

Varnam, H.A. and P.J. Sutherland. 1994. Beverage Technology Chemistry and Microbiology. New York: Chapman&Hall. 191-254 p.

Viencent, J.C. 1989. Green coffee processing. In R.J. Clarke and R. Macrae, eds. Coffee Vol. 2: Technology. Elsevier Applied Science Publisher Ltd.

Von Enden, J.C. 2002. Review of coffee wastewater characteristics and approaches to treatment. Coffee Research Report: Kainantu, Papua New Guinea.

Wrigley, Gordon. 1988. Coffee. New York: John Wiley and Sons.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่