รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. แผนงานวิจัย : วิจัยและพัฒนากาแฟ

2. โครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนากระบวนการผลิตกาแฟคุณภาพ

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : ศึกษาอัตราส่วนสาร Cafestol และ Kahweol ในกาแฟต่อการพัฒนาคุณภาพและอัตลักษณ์กาแฟเฉพาะถิ่น

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Research on ratio content of cafestol and kahweol in coffee responsible to quality and authentication

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	นายโกเมศ สัตยาวุธ	กวป.
ผู้ร่วมงาน	นางสาวสุกัญญา นิติยนต์	กวป.
	นางสาวฉัตรนภา ข่มอาวุธ	ศกล.เชียงใหม่
	นางสุภัทรา เลิศวัฒนาเกียรติ	สวส.

5. บทคัดย่อ

แหล่งผลิตกาแฟ เป็นจุดขายที่สำคัญเพื่อการสร้างความเชื่อมั่นสู่การซื้อขายกาแฟและผู้บริโภคกาแฟที่มีความจำเพาะต่อคุณภาพและอัตลักษณ์เฉพาะตัวของกาแฟในปัจจุบัน กรดไขมันในกาแฟที่มีปริมาณร้อยละ 7.7 – 17.7 ประกอบด้วยสารกลุ่ม diterpene สองชนิดได้แก่ Cafestol และ Kahweol ที่สามารถใช้จำแนกแหล่งผลิต รวมทั้งการควบคุมคุณภาพสินค้ากาแฟได้ การจำแนกความแตกต่างของกาแฟสายพันธุ์เศรษฐกิจสองสายพันธุ์จากกาแฟอะราบิก้า (*C. arabica*) และกาแฟโรบัสต้า (*C. canephora*) โดยใช้การตรวจสอบปริมาณของ Kahweol ที่พบปริมาณน้อยมากในกาแฟโรบัสต้าเป็นการตรวจสอบย้อนกลับสินค้าได้อย่างดี โดยการสะสมของปริมาณสารกลุ่มดังกล่าวจะพบปริมาณมากตั้งแต่ในแปลงเพาะปลูกหลังดอกกาแฟบานเป็นเวลา 90 - 150 วัน (DAF 90 - 150) ซึ่งจะสอดคล้องกับระดับความสูงของพื้นที่ปลูกกาแฟอะราบิก้าที่ระดับ 600 – 1,200 เมตรจากระดับน้ำทะเลที่อธิบายจากอัตราส่วนของสารทั้งสองชนิดตั้งแต่ 1.50 สำหรับพื้นที่ต่ำและต่ำกว่า 0.5 สำหรับพื้นที่สูง นอกจากนี้อุณหภูมิเฉลี่ยของพื้นที่เพาะปลูก ปริมาณน้ำฝน สายพันธุ์กาแฟยังส่งผลต่อสารกำหนดอัตลักษณ์ดังกล่าว อย่างไรก็ตามเมื่อกาแฟเข้าสู่กระบวนการแปรรูปแม้จะมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของสาร diterpene โดยเฉพาะกระบวนการตากและเก็บรักษากาแฟแต่พบว่าอัตราส่วนของสารทั้งสองชนิดมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้ด้วยคุณภาพของกาแฟที่กำหนดด้วยกลิ่นรสจะเกิดจากส่วนของน้ำมันในเมล็ดที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของการผลิตกาแฟ ดังนั้นปริมาณของสาร Cafestol และ Kahweol จึงบ่งบอกถึงคุณภาพการผลิตกาแฟตั้งแต่การปลูกตลอดจนการแปรรูปที่ส่งผลโดยตรงต่อผลการชิมหรือ cupping score ผลการใช้สาร

กรมวิชาการเกษตร

diterpene กำหนดอัตลักษณ์นี้จึงสามารถนำไปควบคุมการผลิตกาแฟ พื้นที่เพาะปลูกกาแฟ สู่การตรวจสอบย้อนกลับสินค้าพืชกาแฟสู่การค้าขายที่เที่ยงธรรม ส่งเสริมการผลิตกาแฟคุณภาพต่อไป
คำหลัก : อัตลักษณ์กาแฟ, สารคาเฟสโทล, สารคาเวโอล, พื้นที่เพาะปลูกกาแฟ, แหล่งผลิตกาแฟ, การแปรรูปกาแฟ

Abstract

Coffee production sites marks the most margin value for current coffee marketing in the aim of building confidence in coffee trading and coffee consumers which refer to coffee specific quality and confirm their authentication. Fatty acid related to qualitative coffee production which contain between 7.7% to 17.7% of coffee consists of two abundant diterpene, Cafestol and Kahweol which can be used for identification of production sites in parallel their quality control of coffee products. Differentiation of two economic coffee varieties from Arabica coffee (*Caffea arabica*) and Robusta (*Caffea canephora*) is based on the determination of the Kahweol content found in very small amounts in Robusta coffee. The accumulation of these above diterpenes was found in the coffee farm after the coffee blossom for 90 - 150 days (DAF 90 - 150), which corresponds to the altitude of the Arabica coffee plantation area. The level of 600 - 1,200 meters above sea level described from the ratio of both substances ranging from 1.50 for low-land and below 0.5 for highlands. Furthermore, the average temperature of cultivated land, rainfall, coffee cultivars also affected the identifying substance. However, when coffee was processed, although there was significant change in the amount of diterpenes, especially the drying and storage process, but their ratio was not modified. On the other hand, coffee quality determined by the aroma and flavor causing by the oil in coffee beans, which is an important component of coffee production. Therefore, besides the amount of change in the compound indicates the production process, the quality of the coffee beans can also be determined by these two diterpenes. The Cupping Score corresponds on the amount of Cafestol and Kahweol, which accord to the research results marked the used for coffee quality control in coffee production. By the optimization of these Chemomectric results, the coffee authentication could trace their plantations, confirm their identity and answer to single origin of coffee products to promte ‘Fair Trade’ production of quality coffee in Thailand.
Keywords: Coffee authentication, Cafestol, Kahweol, Coffee production site, Cafeiculture, Coffee processing

6. คำนำ

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

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

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 ความร้อนและแสงทำให้การศึกษาเพื่อกำหนดคุณภาพกาแฟระหว่างการแปรรูปเชิงลึกมีการใช้ปริมาณของสารชนิดนี้ได้แก่ในระหว่างการคั่วกาแฟมีการใช้สาร Cafestol เป็นสารกำหนดคุณภาพการคั่วกาแฟซึ่งผลการศึกษาสามารถกำหนดถึงปริมาณการเบลนกาแฟที่เหมาะสมระหว่างกาแฟอะราบิก้าและโรบัสต้าได้อีกด้วย (Speer, 1993) โดยในประเทศเยอรมันมีการใช้สาร Cafestol ในการกำหนดระดับการคั่วกาแฟที่มีการพัฒนาวิธีการคั่วโดยกระบวนการที่เรียกว่า DIN Method No.10779 (German institute for standardization, 1999) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของประมาณสารทั้งสองชนิดในกระบวนการชงกาแฟ (Silva, 2015) ได้อธิบายถึงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารดังกล่าวระหว่างการทดสอบชงกาแฟเอสเพลสโซ่าปริมาณสารทั้งสองชนิดจะลดลงจาก 58 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม เป็น 30 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม จากอุณหภูมิน้ำที่เปลี่ยนแปลงจาก 70 องศาเซลเซียสเป็น 90 องศาเซลเซียส

กรมวิชาการเกษตร

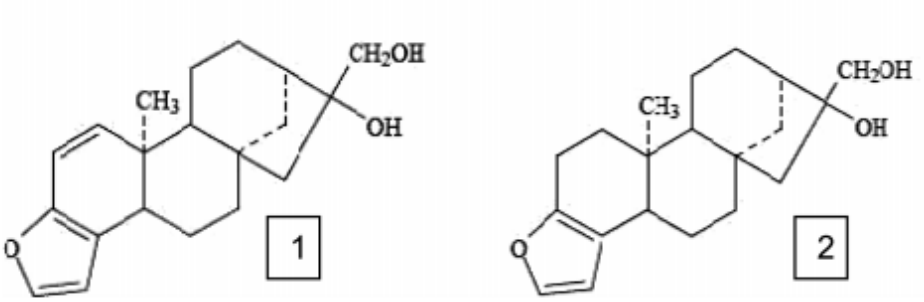


Figure 1 Chemical structure of most abundant coffee diterpenes: (1) Kahweol and (2) Cafestol

การศึกษาปริมาณของสาร Cafestol และ Kahweol ยังให้ความสำคัญถึงผลกระทบทางสุขภาพอีกด้วย โดยมีรายงานว่าสารกลุ่ม diterpene ทั้งสองชนิดนี้ส่งผลต่อการสลายตัวของสารพิษชนิด Aflatoxin B1 (Cavin, 2002) 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)

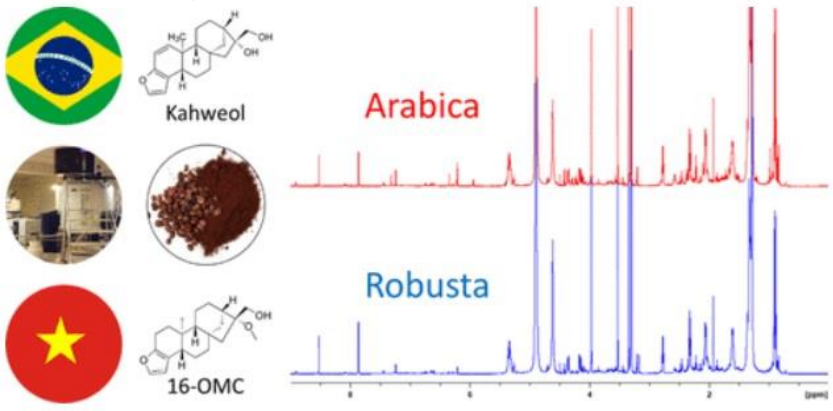


Figure 2 Roasted coffee authentication using diterpenes method (Burton, 2020)

7. วิธีดำเนินการ

กรมวิชาการเกษตร

- อุปกรณ์

1.วัสดุทดลอง

1.1 กาแฟ สายพันธุ์ *Coffea Arabica cv. Chiangmai 80* ชั่วที่ 7 ที่เป็นสายพันธุ์กาแฟแนะนำปรับปรุงพันธุ์ในประเทศไทยจากภาคเหนือและศูนย์วิจัยเกษตรหลวง 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 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

ระเบียบวิธีการทดลอง

พัฒนากระบวนการวิเคราะห์ปริมาณสาร Cafestol และสาร Kahweol ตลอดกระบวนการผลิตกาแฟ ตั้งแต่การเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การหมักกาแฟ การตากกาแฟ การเก็บรักษากาแฟ การคั่วกาแฟและกระบวนการชงประเมินคุณภาพกาแฟ

ขั้นตอนที่ 1 การพัฒนากระบวนการวิเคราะห์ของปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol

กรมวิชาการเกษตร

1. ทดสอบการสกัดสาร diterpene จากเมล็ดกาแฟโดยวิธี Soxhlet และการวิเคราะห์ด้วย PS-GC-FID เปรียบเทียบระหว่างการสกัดโดยวิธี GSLS Soxhlet ที่ 4 ชั่วโมง และการสกัดโดยวิธี AOAC soxhlet ที่ 16 ชั่วโมง

2. ทดสอบเปรียบเทียบการฉีดสารสกัดโดยการใช้กระบวนการ Cold on-column inlet (COC) ที่อุณหภูมิห้องและ กระบวนการ Pulsed split inlet (PS) ที่อุณหภูมิ 330 องศาเซลเซียสใช้ความดันที่ 25 psi

3. ทดสอบวิเคราะห์เบื้องต้นปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol จากตัวอย่างผลิตผลกาแฟเบื้องต้นจากท้องตลาด

ขั้นตอนที่ 2 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol ระหว่างก่อนการเก็บเกี่ยวและระหว่างการเก็บเกี่ยวเชอร์รี่กาแฟ

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)

ขั้นตอนที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol ระหว่างกระบวนการหมักย่อยเมือกกาแฟ

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

2. ศึกษาปริมาณสารสำคัญในเมล็ดกาแฟโดยเครื่องโครมาโตกราฟีแรงดันสูงในเปลือกหุ้มกาแฟภาวะปกติและภาวะที่เกิดจากการหมักโดยศึกษาการผลิตกรดปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol จากการย่อยเปลือกหุ้มเมล็ดโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์

แผนการทดลอง ออกแบบการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม ไม่เติมหัวเชื้อ

กรรมวิธีที่ 2 ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ *Saccharomyces cerevisiae BAwine*

กรรมวิธีที่ 3 ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์ *PROwine 16*

จากนั้นนำขวดหมักที่บรรจุเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟมาเติมน้ำกลั่นปริมาตร 400 มิลลิลิตร ปิดฝา ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อเริ่มทำการหมัก ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมงเพื่อนำมาทำการวิเคราะห์ผล

กรมวิชาการเกษตร

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

ขั้นตอนที่ 4 การตากและการเก็บรักษากาแฟ

1. แบ่งสารกาแฟในการตากโดยการสุ่มเมล็ดกาแฟมาอย่างน้อยแปลงทดลองละ 300 กรัม และระหว่างการเก็บรักษาทุกสัปดาห์ตลอดเวลาการเก็บรักษา 18 เดือนความชื้นไม่เกินร้อยละ 50

แผนการทดลอง ออกแบบการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม เมล็ดกาแฟเก็บในกระสอบป่าน

กรรมวิธีที่ 2 เก็บในถุงซิบ One way valve

กรรมวิธีที่ 3 เก็บในกล่องกระดาษหุ้มฟลอย

2. ศึกษาปริมาณสารสำคัญในเมล็ดกาแฟโดยเครื่องโครมาโตกราฟีแรงดันสูงในเปลือกหุ้มกาแฟภาวะปกติและภาวะที่เกิดจากการหมักโดยศึกษาการผลิตกรดปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol

การบันทึกข้อมูลปริมาณ Cafestol และ Kahweol, ปริมาณกรดซิตริก, ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

-เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2561 – กันยายน 2563

สถานที่ดำเนินการ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่, ศูนย์วิจัยพืชสวนวาวี(เชียงราย),
ศูนย์วิจัยพืชสวนเขาค้อ(เพชรบูรณ์), ศูนย์วิจัยพืชสวนมูเซอ(ตาก)
กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการศึกษากระบวนการวิเคราะห์สารกลุ่ม Diterpene (Cafestol และ Kahweol)

1.1 ผลการศึกษาการสกัดสาร diterpene จากเมล็ดกาแฟโดยวิธี Soxhlet และการวิเคราะห์ด้วย PS-GC-FID ตามวิธีวิเคราะห์ด้วยวิธี GSLS และ AOAC ตาม Table 1 จะใช้การสกัดไขมันจากกาแฟโดยใช้การสกัดที่ 4 ชั่วโมงและ 16 ชั่วโมงตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบอัตราการสกัด (extraction yield) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของผลวิเคราะห์ (RSD%) ผลทางสถิติที่วิเคราะห์โดยวิธี Tukey's test ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังนั้นเวลาในการสกัดเพียง 4 ชั่วโมงจึงเพียงพอสำหรับการสกัดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol

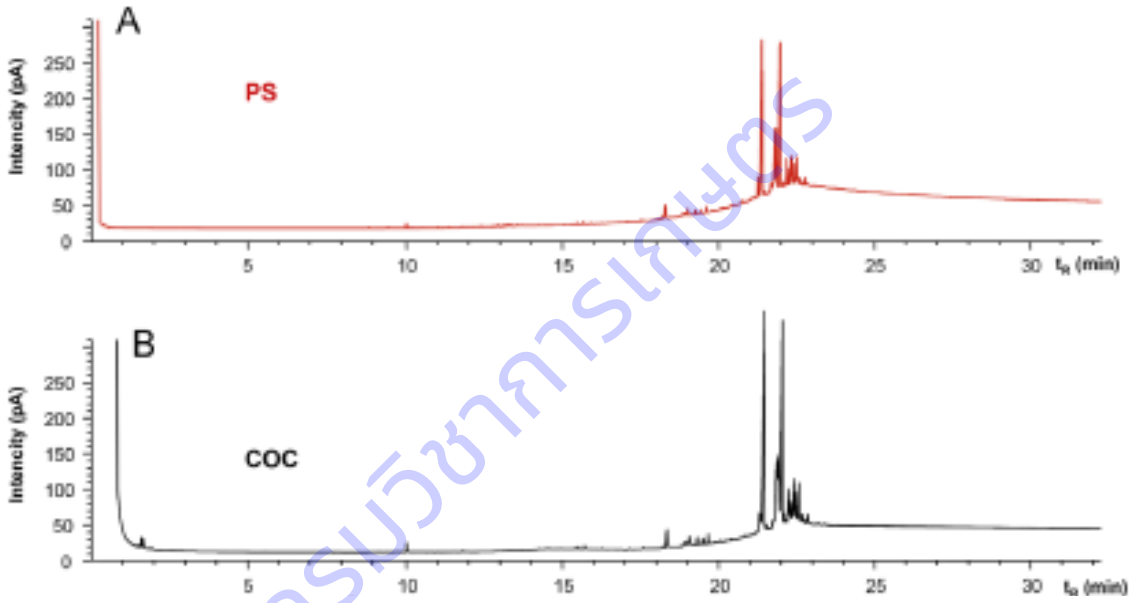
กรมวิชาการเกษตร

Table 1 Extraction yield of total free diterpenes (100g.g^{-1}) present in green Arabica coffee oil versus extraction time (h)

Yield (100g. g^{-1})	*GSLS Soxhlet (4 hours)*	*AOAC Soxhlet (16 hours)*
Average	10.43	10.50
SD	0.52	0.21
RSD %	4.96	1.99

1.2 ผลการเปรียบเทียบวิธีการฉีดสารกลุ่ม Diterpene

ผลการเปรียบเทียบการทดสอบการฉีดสารโดยการใช้กระบวนการ Cold on-column inlet (COC) ที่อุณหภูมิห้องและ กระบวนการ Pulsed split inlet (PS) ที่อุณหภูมิ 330 องศาเซลเซียสใช้ความดันที่ 25 psi พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณสารมาตรฐาน diterpene ที่วิเคราะห์



กรมวิชาการเกษตร

Figure 1 Chromatograms of diterpene standard (A) PS injector (pulse of 25 psi during the initial 15s with split ratio 1:50 at 330C) (B) COC injector in track oven mode. Both conditions used the DB-5MS capillary column (10m, 0.25 mm, 0.15 mm) programmed from 50 C (0.25 min) at 15 C/min to 380 C (10 min), FID at 400 C.

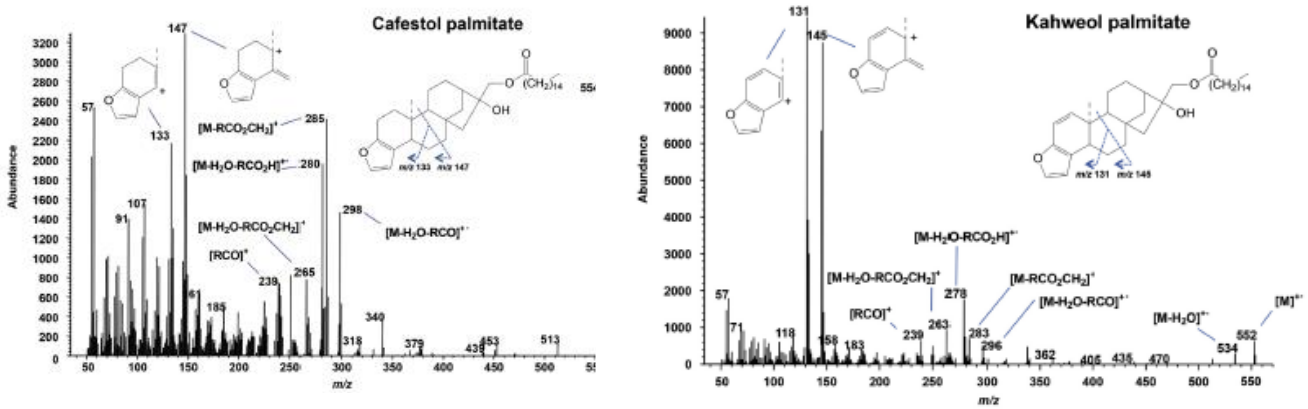


Figure 2 Mass spectra of cafestol, kahweol obtained on GC-MS with PS inlet at 330 C (pressure pulse of 25 psi during the initial 15s) using DB-5MS column (10m, 0.25mm, 0.15 mm) heated from 50 C (0.25 min) at 15 C/min to 380 C (10 min) and MSD transfer line at 380 C.

1.3 ผลวิเคราะห์เบื้องต้นปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol จากตัวอย่างผลิตผลกาแฟ

ผลการศึกษากระบวนการสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณสาร diterpene ในตัวอย่างกาแฟ ได้นำไปทดสอบวิเคราะห์ในตัวอย่างกาแฟโดยใช้วิธี PS-GC-FID และทำกราฟมาตรฐานที่ความเข้มข้น 8 ถึง 69 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรพบว่ามีค่า r^2 เท่ากับ 0.99 ในสารทั้ง 2 ชนิดโดยสามารถคำนวณค่า LOD (Limit of Detection) ได้ที่ 0.78 และ 0.64 และ LOQ ได้ที่ 2.61 และ 2.14 ตามลำดับโดยนำมาทดสอบวิเคราะห์ปริมาณสารในตัวอย่างกาแฟ 6 ตัวอย่าง พบว่ากาแฟที่มีค่า C/K สูงกว่า 1.2 มีคุณภาพดี(soft) และค่าน้อยกว่า 0.96 มีคุณภาพต่ำ (Hard/Rio)

Table 2 Yield (g100 . g^{-1}) of diterpene in Thailand green Arabica coffee oil and beans, and its correlation with cup quality

Coffee bean number and cup evaluation	*Kahweol (K)* Oil	*Cafestol (C)* Oil	*Ratio (C/K)*	*Total* Oil	Bean
1. Hard	6.64	4.25	0.64	11.27	1.07
2. Rio	7.50	4.92	0.66	12.42	1.10
3. Hard	5.81	4.14	0.71	10.31	0.95
4. Soft	3.93	4.80	1.22	9.13	0.82
5. Soft	4.87	7.21	1.48	12.08	1.04
6. Soft	4.24	6.51	1.54	10.75	0.89

2. ผลวิเคราะห์ปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol พร้อมปัจจัยการเพาะปลูก พื้นที่และกรรมวิธีการปลูกที่ส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญ

2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol. จากปัจจัยการเพาะปลูก

กรมวิชาการเกษตร

Table 3 Chemical Composition in Thai coffee beans *Coffea arabica* and *Coffea canephora*

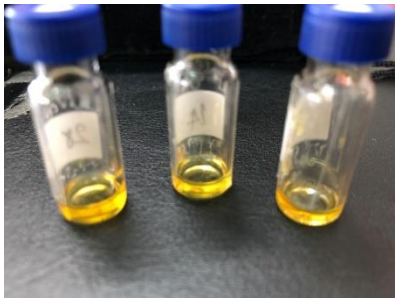
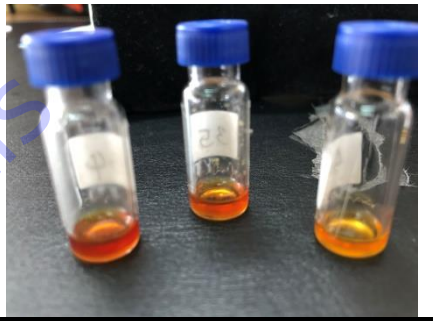
Compounds	*C. arabica(%)*	*C. canephora(%)*
Caffeine	0.8 – 1.4	1.7 – 4.0
Trigonelline	0.6 – 1.2	0.3 – 0.9
Mineral	3 – 5.4	
Total Chlorogenic acid	6.7 – 9.2	7.1 – 12.1
Non-volatile acid	2 – 2.9	1.3 – 2.2
Volatile acid	0.1	
Carbohydrates	9 – 12.5	6.0 – 11.5
Polysaccharides	46 - 53	34 – 44
Lignin	1 – 3	
Protein	8.5 – 12	
Amino acid	0.2 – 0.8	
Fats	7.7 – 17.7	

Table 4 Composition of Coffee oils (dry materials) using methods AOAC, 1965

Compounds	*Total (%)*
Triglyceride	75.2
Diterpene ester	18.9
Steroid	5.4
Tocopherol	0.04 – 0.06
Phosphatidic acid	0.1 – 0.5
Others	1.0

กรมวิชาการเกษตร

Table 5 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.

Table 6 Cafestol and Kahweol content in perisperm tissue during *C. arabica* fruit development.

Development of Fruit perisperm tissues (DAF)	*Cafestol (mg/100g)* [a]	*Kahweol (mg/100g)* [a]	*Cafestol/Kahweol Ratio*
30	241.68 ± 44.5	81.77 ± 41.2	2.96
60	217.98 ± 20.9	304.11 ± 47.5	0.72
90	203.16 ± 37	513.57 ± 85.6	0.40
120	276.67 ± 29.9	1009.48 ± 71.3	0.27
150	69.83 ± 17.5	355.24 ± 85.1	0.20
180	24.46 ± 10.2	121.48 ± 70	0.20
210	17.93 ± 2.6	14 ± 5.7	1.28

Data are means ± standard deviations. DAF, days after flowering

[a] Measurement conducted using gas chromatography analysis.

กรมวิชาการเกษตร

Table 7 Cafestol and Kahweol content in perisperm tissue during *C. canephora* fruit development.

Development of Fruit perisperm tissues (DAF)	*Cafestol (mg/100g)* [a]	*Kahweol (mg/100g)* [a]	*Cafestol/Kahweol Ratio*
30	198.63 ± 24.2	0.085 ± 0.002	2,336.82
60	207.39 ± 10.5	0.258 ± 0.322	803.84
90	227.52 ± 37	1.255 ± 0.512	181.29
120	1,758.24 ± 20.9	9.081 ± 2.032	193.62
150	1,193.32 ± 16.5	6.236 ± 8.10	191.36
180	560.66 ± 10.2	1.003 ± 1.250	558.98
210	369.36 ± 2.6	0.003 ± 0.036	1,231.20

Data are means ± standard deviations. DAF, days after flowering

[a] Measurement conducted using gas chromatography analysis.

Table 8 Cafestol and Kahweol ratio in perisperm tissue during *C. Arabica and C. canephora* fruit development (DAF 120) in four different regions

Varieties	*Region*	*Cafestol (mg/100g)* [a]	*Kahweol (mg/100g)* [a]	*Cafestol/Kahweol Ratio*
C. Arabica	Khun Wang (Chiang Mai)	272.55 ± 29.9	1009.48 ± 71.3	0.27
	Wawi (Chiang Rai)	413.88 ± 30.9	985.43 ± 20.3	0.42
	Phutubberk (Petchabun)	97.90 ± 12.36	890.01 ± 25	0.11
	Khao koh (Petchabun)	674.78 ± 25.6	758.18 ± 30.5	0.89
	Muser (Tak)	943.75 ± 12.8	699.08 ± 12.5	1.35
C. canephora	Sawi (Chumporn)	227.52 ± 37	1.255 ± 0.512	181.29
	Than to (Yala)	406.27 ± 15.2	2.081 ± 0.122	195.23

Data are means ± standard deviations. DAF, days after flowering

[a] Measurement conducted using gas chromatography analysis.

กรมวิทยาศาสตร์

Table 9 Summarize of total diterpenes and their main volatile compounds in raw coffee beans related to species and cultivars, geographical origins from gas chromatography flavor analysis from over 200 samples of Thai green beans collecting during 2018 – 2019.

criteria	*Species*		*Geographical origins* (C. Arabica)		
	Arabica	Robusta	Lower temperatures (Tavg = 18 C)	High temperatures (Tavg = 26 C)	Rainfall (1,500 to 2,500 mm)
Volatile compounds	Furaneol Sotolon	Methylpyrazine Methylbutanal Ethylguiacol Akylpyrrole	Ethanal	Butanediol Butanone Methylfuran	∂-valerolactone
Cafestol	312.15 ± 20.9	217.12 ± 17	383.88 ± 30.9	97.90 ± 12.36	574.78 ± 25.6
Kahweol	809.48 ± 11.3	1.25 ± 0.512	985.43 ± 10.3	233.09 ± 25	718.47 ± 25
C/K Ratio	0.39	173.70	0.39	0.42	0.80

Table 10 Organoleptic analysis (using SCA score of 10) of different diterpene contents criteria following of pre-harvesting factors (Species and Geographical origins) from over 200 samples of Thai green beans collecting during 2018 – 2019.

criteria	*Species*		*Geographical origins* (C. Arabica)		
	Arabica	Robusta	Lower temperatures (Tavg = 16.4 C)	High temperatures (Tavg = 25.6)	Rainfall (1,500 to 2,500 mm)
Odor	8	7	8.5	7.5	8
Body	8	7.5	8	7	8
Bitterness	7.5	7	8.5	8	7.5
Acidity	7	8	9	7	7
Sweetness	7	7.5	8.5	7	6.5
SCA Cupping score	84.5	78.5	87.5	72.5	74.5

กรมวิทยาศาสตร์

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในเมล็ดกาแฟหลังเก็บเกี่ยวและในน้ำมันสกัดจากเมล็ดกาแฟพบว่ามีปริมาณไขมันอยู่ที่ร้อยละ 7.7 – 17.7 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

อย่างไรก็ตามเมื่อทำการวิเคราะห์แยกส่วนของสารประกอบกลุ่ม Diterpene โดยการสกัดน้ำมันจากส่วนต่างๆได้แก่ 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 เมตรที่มีอัตราส่วนระหว่าง 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 สำหรับผลทางประสาทสัมผัสต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารสำคัญของกาแฟอาราบิก้าและโรบัสต้าเฉพาะถิ่นก่อนการเก็บเกี่ยว พบว่าหากอุณหภูมิที่สูงและปริมาณน้ำฝนมากจะส่งผลต่อคะแนน Cupping score ชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบในพื้นที่เดียวกันที่อุณหภูมิเพาะปลูกต่ำกว่าโดยคะแนนผลการชิมมีความแตกต่างกันกว่าร้อยละ 11.84 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผลของแหล่งเพาะปลูกนั้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารสำคัญ Cafestol และ Kahweol และผลของคะแนนทางประสาทสัมผัสอีกด้วยดังนั้นคุณภาพของกาแฟที่แสดงถึงแหล่งเพาะปลูกจึงมีความสำคัญตั้งแต่การคัดเลือกแหล่งเพาะปลูกที่จะสื่อถึงอัตลักษณ์กาแฟรวมทั้งคุณภาพก่อนเข้าสู่กระบวนการแปรรูปอีกด้วย

กรมวิชาการเกษตร

3. การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol ระหว่างกระบวนการหมักย่อยเมือกกาแฟ

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร Cafestol และปริมาณสาร Kahweol ต่อการหมักเมล็ดกาแฟไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารกลุ่ม diterpene ทั้งสองอย่างมีนัยสำคัญโดยเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณชุดควบคุมพบการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ Cafestol โดยเฉลี่ยเพียง 12.32% และ Kahweol โดยเฉลี่ยเพียง 5.82% ทั้งนี้เมื่อนำมาคำนวณเป็นค่าอัตราส่วน Cafestol/Kahweol พบว่ามีค่าคงที่ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการหมักย่อยเมือกกาแฟไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารกลุ่ม diterpene

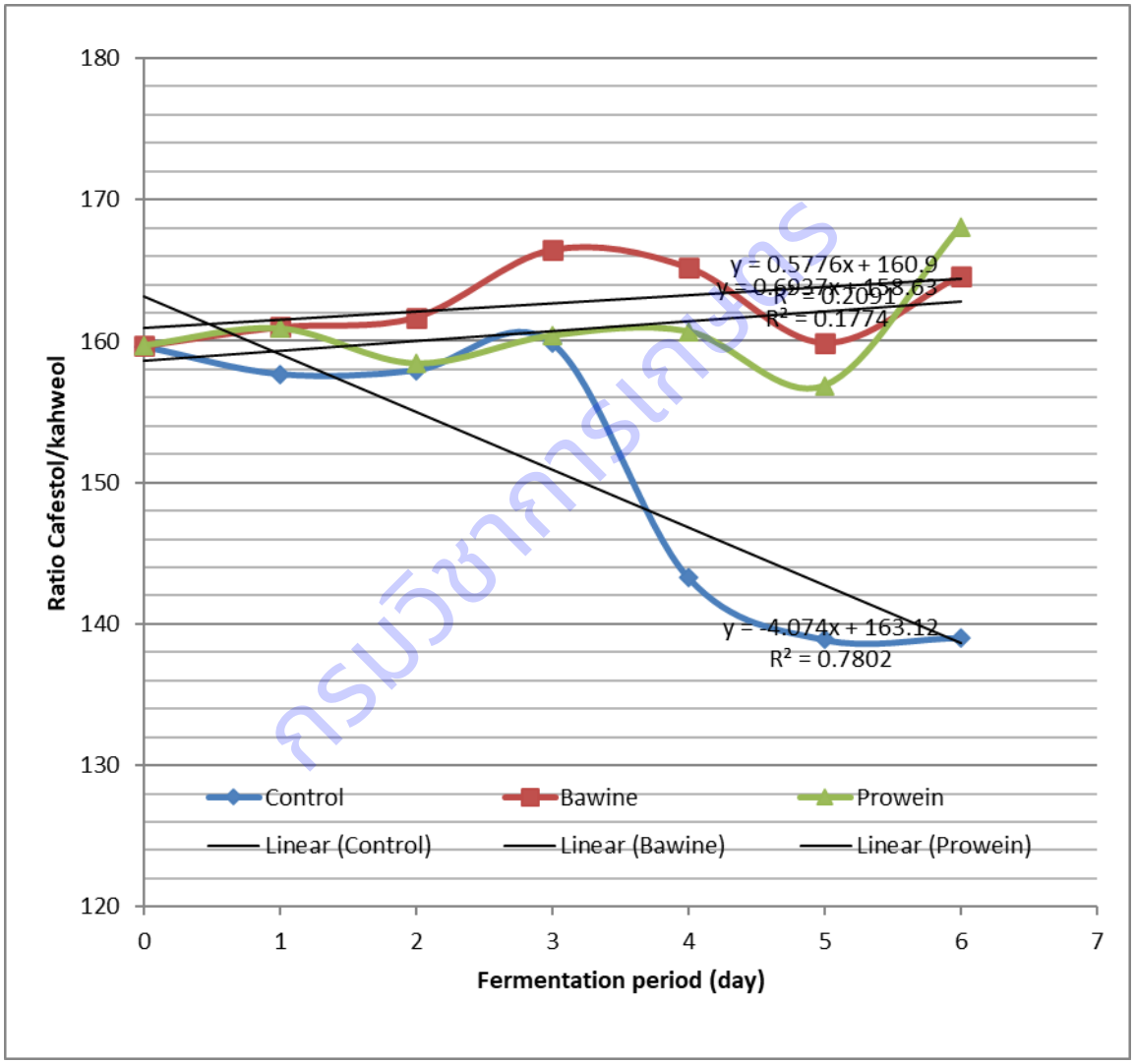


Figure 3 Ratio of Cafestol/Kahweol during *C. Arabica* Fermentation period

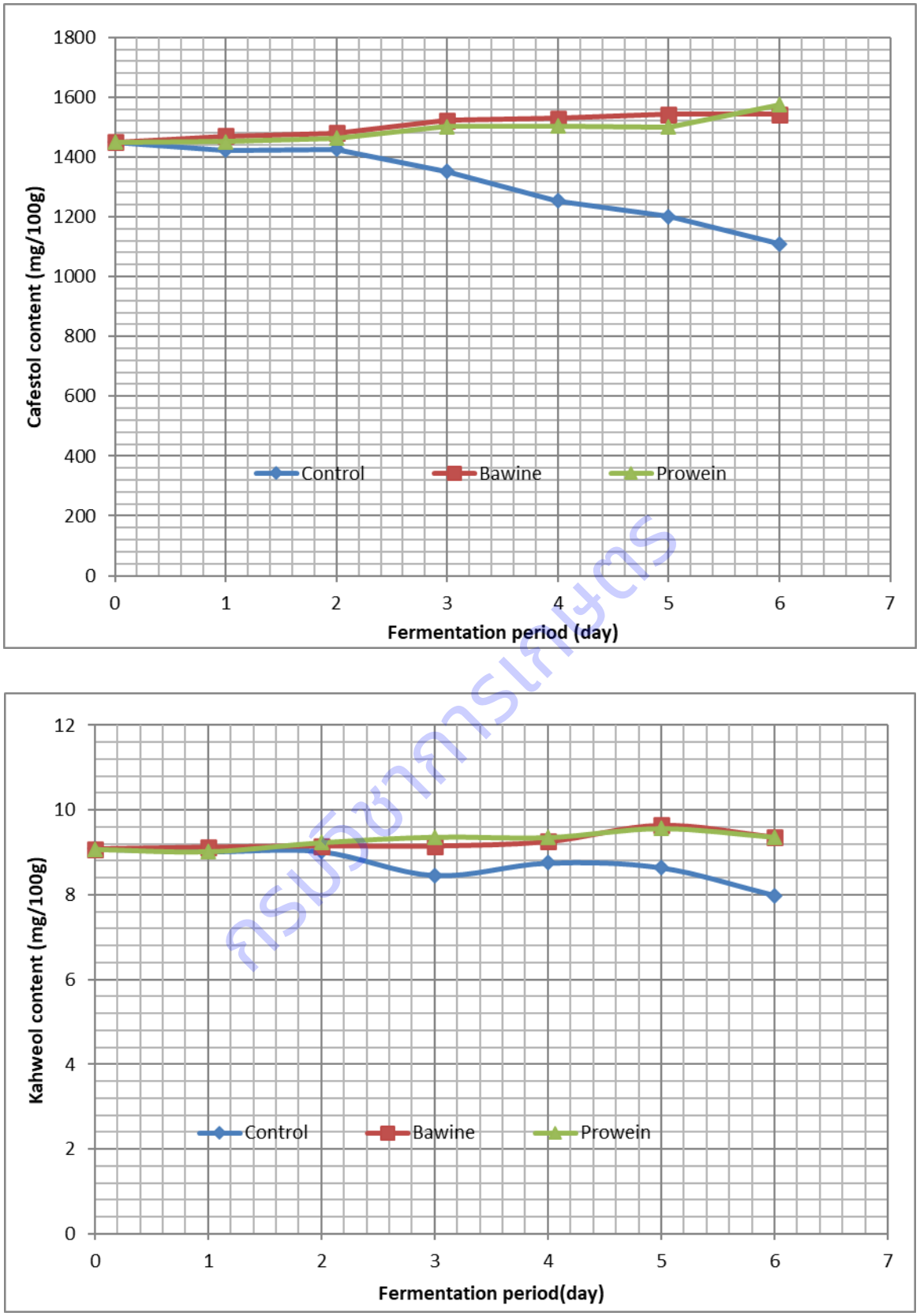


Figure 4 Cafestol and Kahweol content in perisperm tissue during *C. arabica* fermentation

4. การเปลี่ยนแปลงชองปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol จากการทำแห้งสารกาแฟ

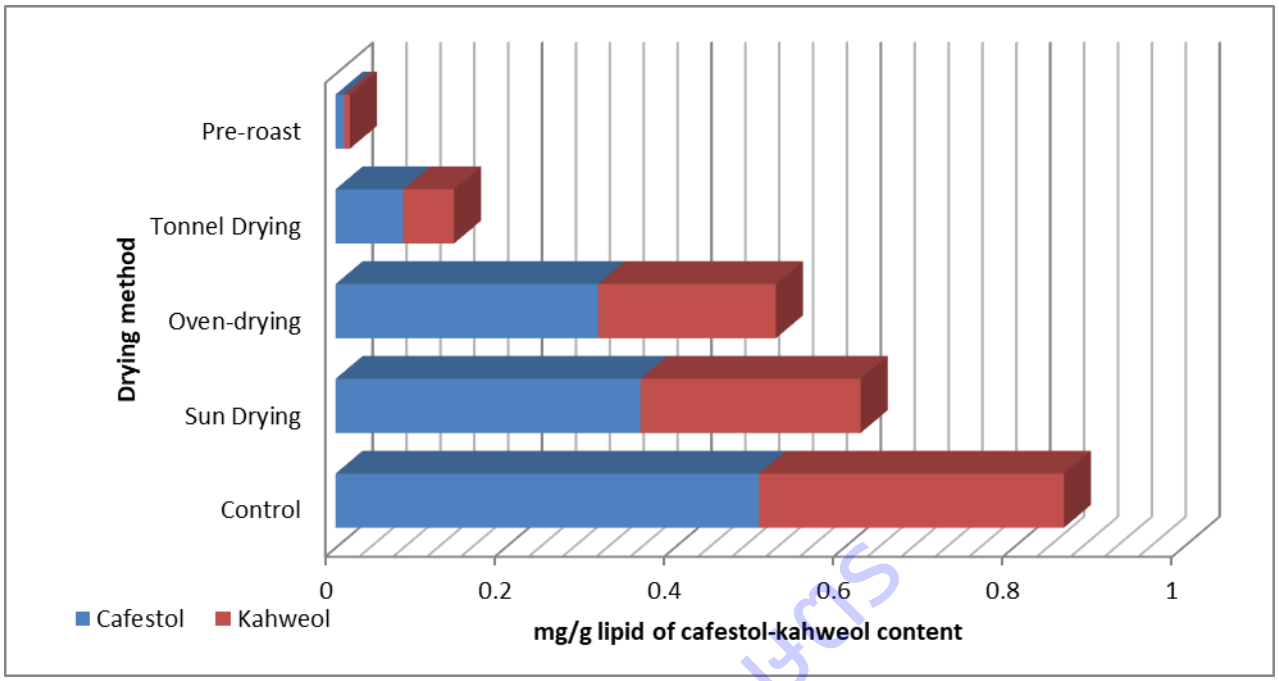


Figure 5 Effect of different drying method on Cafestol and Kahweol content in perisperm tissue during *C. arabica* fermentation

ผลการเปรียบเทียบการทำแห้งกาแฟกะลาจำนวน 5 วิธีจนความชื้นเมล็ดกาแฟน้อยกว่าร้อยละ 5 (Bean Moisture content < 5%) ได้แก่ การตากแดดธรรมชาติ, การใช้ตู้อบลมร้อนที่ 60 องศาเซียส, การใช้โรงอบลมร้อนและการคั่วอ่อนที่อุณหภูมิไม่เกิน 80 องศาเซลเซียสพบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร Cafestol และ Kahteol อย่างมีนัยสำคัญโดยพบว่าเมื่อใช้ความร้อนในการทำแห้งสูงโดยเฉพาะการเลือกใช้กระบวนการทำแห้งโดยใช้เครื่องมือไม่ว่าจะเป็นตู้อบ โรงอบพลังงานแสงอาทิตย์หรือการใช้เครื่องคั่วอ่อนนั้นปริมาณสารดังกล่าวจะลดลงในปริมาณมากเมื่อเทียบกับชุดควบคุมจากร้อยละ50 – 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

กรมวิชาการเกษตร

5. ปริมาณสาร Cafestol และ Kahweol พร้อมปัจจัยการเก็บรักษาเมล็ดกาแฟภาวะต่างๆที่ส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญ

ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารสำคัญของกาแฟในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 6 กรรมวิธีพบว่าหลังจากทดสอบเก็บสารกาแฟที่อุณหภูมิและความชื้นควบคุม พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณลดลงของปริมาณน้ำมันโดยรวมและสารสำคัญโดยพบว่า ตั้งแต่เวลาการเก็บรักษา 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

Table 1 1 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

กรมวิชาการเกษตร

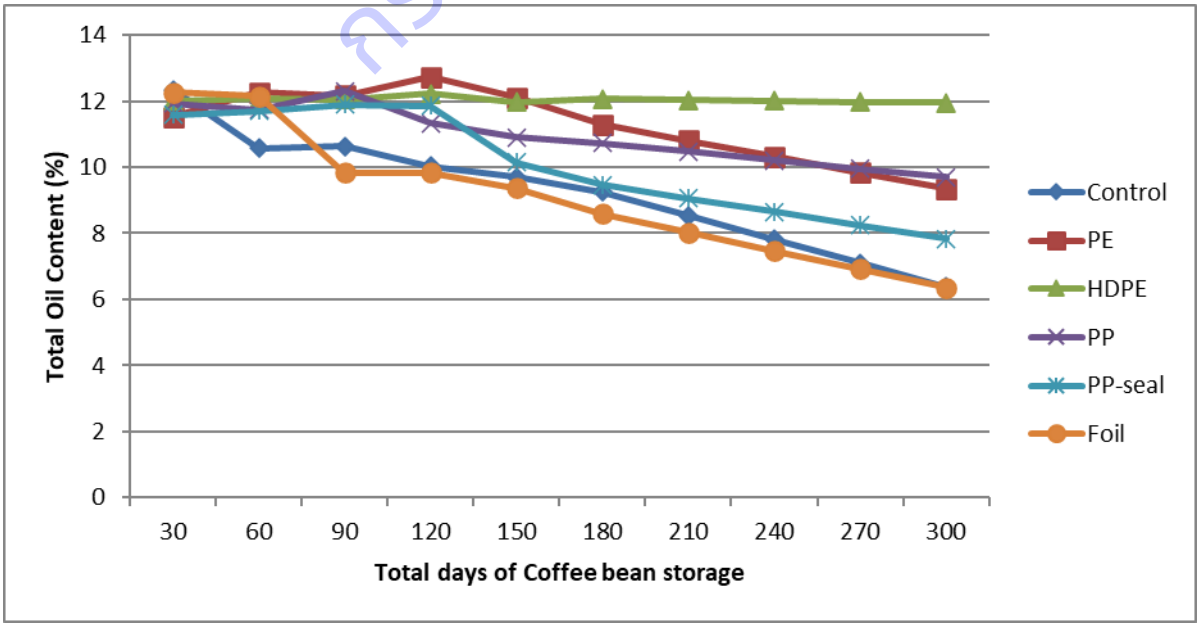


Figure 6 Shown evaluation of coffee oil content in six types after 210 days of storage

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สารประกอบกลุ่ม diterpene สามารถใช้ในการจำแนกอัตลักษณ์กาแฟตามหลักการของ chemometric โดยกลุ่มสารให้กลิ่นในกาแฟที่สำคัญรวมทั้งสารประกอบที่ส่งผลต่อคุณภาพกาแฟจะพบในส่วนของน้ำมันกาแฟที่มีปริมาณระหว่างร้อยละ 7.7 – 17.7 ที่เกิดจากแหล่งเพาะปลูกรวมทั้งกระบวนการแปรรูปการจำแนกอัตลักษณ์กาแฟโดยใช้อัตราส่วนของสาร Cafestol และ Kahweol นั้นสามารถพัฒนาสู่การตรวจสอบย้อนกลับสินค้ากาแฟโดยเฉพาะการจำแนกอัตราการผสมระหว่างกาแฟสายพันธุ์เศรษฐกิจหลักทั้ง *C. arabica* และ *C. canephora* โดยสาร Kahweol ที่จะพบปริมาณมากในกาแฟอะราบิก้าและน้อยมากหรือแทบไม่มีในกาแฟโรบัสต้า นอกจากนี้กระบวนการผลิตกาแฟตั้งแต่การเพาะปลูกที่เริ่มมีการสะสมปริมาณสารทั้งสองชนิดตั้งแต่วันที่ 90 หลังดอกบาน (DAF90) พื้นที่เพาะปลูกกาแฟอะราบิก้าที่ระดับความสูงแตกต่างกัน อุณหภูมิพื้นที่เพาะปลูก ปริมาณน้ำฝนล้วนส่งผลต่ออัตราส่วนของสารทั้งสองชนิด แต่เมื่อเข้าสู่กระบวนการแปรรูปแม้จะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารทั้งสองชนิดจากกระบวนการทำแห้งหรือกระบวนการเก็บรักษากาแฟในบรรจุภัณฑ์ต่างชนิด ผลการวิจัยกลับพบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณอัตราส่วนที่น้อยมากทำให้สมมติฐานของหลักการใช้ chemometric ของ diterpene ในกาแฟนั้นเป็นกระบวนการที่สามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบย้อนกลับของสินค้ากาแฟได้ นอกจากนี้ผลของการทดสอบทางประสาทสัมผัสหรือ cupping score ยังส่งผลไปในแนวทางเดียวกันของปริมาณสารประกอบกลุ่มดังกล่าว ซึ่งกล่าวได้ว่าผลของการศึกษาปริมาณสารกำกับอัตลักษณ์ของกาแฟและบ่งบอกคุณภาพนี้เป็นต้นแบบการควบคุมแหล่งผลิตและกระบวนการผลิตกาแฟสู่การควบคุมคุณภาพอีกทั้งกำหนดอัตลักษณ์ของกาแฟเฉพาะถิ่นที่พัฒนาต่อยอดได้เพื่อความมั่นใจในการซื้อขายและการบริโภคกาแฟสำหรับตลาดกาแฟในปัจจุบัน

10.การนำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ด้านวิชาการและเศรษฐกิจ ได้แก่ กระบวนการหมักกาแฟแบบใหม่โดยเทคนิค AAF (Acid-Air-Flore Fermentation) และเชื้อจุลินทรีย์สายพันธ์ใหม่ได้แก่ *S. cerevisiae* strain BAwine

2. ด้านสังคม ได้แก่ นำเทคโนโลยีการหมักกาแฟไปเผยแพร่เพื่อให้เกษตรกรสามารถพัฒนากระบวนการหมักกาแฟอาราบิก้าคุณภาพได้ เพื่อพัฒนากรรมวิธีการหมักกาแฟอาราบิก้าคุณภาพที่รวดเร็วต้นทุนต่ำและนำไปใช้ประโยชน์และยอมรับในวงกว้าง พร้อมทั้งนำเสนอความคิดใหม่ในการพัฒนากาหมักกาแฟอาราบิก้าคุณภาพดังกล่าวเพื่อเป็นทางเลือกที่ทำรายได้ให้กับเกษตรกรต่อไป (ผลสำเร็จระดับ P)

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

ศรีวิชาการ Inbus

12. เอกสารอ้างอิง

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, สุภัทรา เลิศวัฒนาเกียรติและฉัตรนภา ข่มอาวุธ, 2560. การหมักกาแฟโดยเชื้อจุลินทรีย์. รายงานการประชุมวิชาการการกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว และแปรรูปผลิตผลเกษตร ปี 2560, 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.

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

ศูนย์วิจัยและพัฒนากาแฟบนที่สูง. 2542. การปลูกกาแฟและผลิตกาแฟอาราบิก้าบนที่สูง. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

สมเจตน์ ชิ้มเจริญ. 2546. ผลการวิเคราะห์ดินจากแปลงปลูกกาแฟโรบัสต้าในประเทศไทย. วารสารกาแฟเนสท์เล่, ฉบับที่ 2, หน้า 2-7.

Burton, I. 2020. Quantitative NMR Methodology for the authentication of roasted coffee and prediction of blends, *J. Agri. Food Chem.* 68, 49, 14643-14651.

Cavin, C. 2002. Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. Food Chem. Toxicol. 40, 1151-1163.

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

Eloy-dias, R.C. Campanha, F.G. Vieira, L.G.E. Ferreira, L.P. Pot, D. Marraccini, P. and M. Toledo benassi. 2010. Evaluation of kahweol and Cafestol in coffee tissues and roasted coffee by

ศูนย์วิทยทรัพยากร

a new high-performance liquid chromatography methodology. *J. Agric. Food Chem.* 58, 88-93.

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.

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

Nasanit R. and K. Satayawut. 2014. Microbial communities during wet fermentation process of *Coffea Arabica* var. *chiangmai 80.* Kasetsart University Journal.

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.

Schievano, E. Finotello, C. De Angelis, E. Mammi, S. and L. Navarini. 2014. Rapid authentication of coffee blends and quantification of 16-O-Methylcafestol in roasted coffee beans by nuclear magnetic resonance. *J. Agri. Food Chem.*

Silva, CF. Vilela, DM. Cordeiro, CLDS. 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.

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 PublisherLtd.

กรมวิทยาศาสตร์