

บทที่ 4

การเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยของเมล็ดกาแฟคั่วในบรรจุภัณฑ์ และสถานะการเก็บที่แตกต่างกัน

4.1 บทคัดย่อ

เนื่องจากกาแฟคั่วมีการสูญเสียกลิ่นรสระหว่างการเก็บ ดังนั้นบทนี้จึงมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาความคงตัวของสารประกอบที่พบในระหว่างการเก็บรักษาเมล็ดกาแฟคั่วในบรรจุภัณฑ์แบบต่างๆ โดยได้ศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยของเมล็ดกาแฟคั่วในสถานะการเก็บ 4 แบบ คือ ในถุงบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CV) ในถุงบรรจุแบบ one way valve เก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CW) ในถุงบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิห้อง (RV) และในถุงบรรจุแบบ one way valve เก็บที่อุณหภูมิห้อง (RW) โดยทำการสกัดสารประกอบระเหยโดยวิธี headspace solid phase microextraction ใช้สารประกอบ cyclohexanone เป็น internal standard ระยะเวลาที่ใช้ศึกษาคือ 15, 30, 60 และ 90 วัน และสารประกอบระเหยที่เลือกใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลงได้แก่ pyridine; 2-furanmethanolacetate; 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine; 1-(1-cyclohexen-1-yl)-ethanone; 5H-5-methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine และ 4-ethyl-2-methoxyphenol ผลการทดลองพบว่า สารประกอบระเหยในถุงบรรจุแบบสุญญากาศ และถุงบรรจุแบบ one way valve เก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ($p > 0.05$) ส่วนในถุงบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิห้อง สารประกอบระเหยบางชนิด ได้แก่ pyridine; 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine และ 4-ethyl-2-methoxyphenol มีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วที่ระยะเวลาการเก็บเพียง 30 วัน ($p < 0.05$) และในถุงบรรจุแบบ one way valve เก็บที่อุณหภูมิห้อง สารประกอบ 5H-5-methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine มีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 15 วัน ($p < 0.05$) นั่นคือถุงบรรจุแบบสุญญากาศ และถุงบรรจุแบบปิด one way valve ช่วยในการเก็บรักษากลิ่นรสได้ใกล้เคียงกัน จากการทดลองพบว่าอุณหภูมิในการเก็บมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยในกาแฟ โดยที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียสในถุงบรรจุแบบสุญญากาศและถุงบรรจุแบบ one way valve ช่วยเก็บรักษาสารประกอบระเหยในกาแฟคั่วได้ดีกว่าการเก็บกาแฟที่อุณหภูมิห้อง

4.2 บทนำ

จากรายงานของ Sivetz และคณะ (1963) ได้กล่าวถึงคุณภาพของกาแฟว่าเมื่อเราบริโภคกาแฟเราไม่ได้คำนึงถึงสารอาหารในกาแฟ แต่อยู่ที่กลิ่นรส ความสด ความหอม ดังนั้นการเก็บรักษากาแฟคั่วให้ยังคงความสด มีกลิ่นหอม เป็นเรื่องที่น่าสนใจ ปัญหาที่สำคัญของกาแฟคั่วคือการสูญเสียกลิ่นรส และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น ในการเลือกวัสดุที่ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึง ได้แก่ ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ ความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจน ความสามารถในการซึมผ่านของคาร์บอนไดออกไซด์และสารประกอบระเหย (งามทิพย์, 2537) นอกจากนั้นวัสดุที่ใช้ทำภาชนะบรรจุอาจจะต้องป้องกันการซึมผ่านของน้ำมัน โดยเฉพาะกาแฟที่ผ่านการคั่วแบบเข้ม ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมได้กำหนดให้ภาชนะที่ใช้บรรจุกาแฟคั่วต้องสะอาด แห้ง ปิดได้สนิท ป้องกันความชื้นได้ และสามารถเก็บรักษากลิ่นรสของกาแฟคั่วไว้ได้ (มอก. 522, 2527)

การเลือกวัสดุสำหรับบรรจุกาแฟโดยทั่วไปจะใช้ถุงมัลติเลเยอร์ (multilayer bag) ประกอบด้วยชั้นของฟิล์มเคลือบซิลิกา (silica coated films) อลูมิเนียมฟอยล์ (aluminium foil) และฟิล์มเซลลูโลส (cellulose film) ปรับสภาพอากาศภายในถุงโดยใช้ก๊าซไนโตรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซออกซิเจน หรือปรับสภาพให้เป็นสุญญากาศน้อยๆ และมีปริมาณก๊าซออกซิเจนต่ำ อายุการเก็บของ การบรรจุกาแฟคั่วภายใต้สุญญากาศและมีปริมาณออกซิเจนในระดับต่ำ อายุการเก็บจะนานถึง 180 วัน (Clarke และ Macrae, 1985)

สิ่งที่ต้องคำนึงถึงในการบรรจุ ได้แก่ ปริมาณช่องว่างในถุงบรรจุเพื่อลดแรงดันของคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นในถุงบรรจุ โดยพบว่าก๊าซที่ปลดปล่อยออกจากกาแฟคั่ว ร้อยละ 87 เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Anderson และคณะ, 2003) คาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากปฏิกิริยาหลายๆ แบบ ได้แก่ ปฏิกิริยาการสลายตัวแบบสเตอร์เกอร์ (Strecker degradation) ปฏิกิริยาไพโรไลซิสของน้ำตาล (Pyrolysis of sugar) ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) สารให้กลิ่นรสของกาแฟที่เกิดขึ้นจะถูกกักเก็บไว้ในเมล็ดกาแฟ และแพร่ออกมาอย่างช้าๆ ในระหว่างการคั่วกาแฟและบดเมล็ดกาแฟ ถ้ากาแฟถูกบรรจุทันทีหลังการคั่ว ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะทำให้ความดันภายในภาชนะบรรจุสูงขึ้น ซึ่งอาจจะทำให้บรรจุภัณฑ์ พองและแตกออก หรือทำความเสียหายให้ภาชนะบรรจุ พบว่ารูพรุนที่เกิดขึ้นจากการคั่วกาแฟที่อุณหภูมิสูงส่งผลต่อการดูดซับก๊าซในระหว่างการเก็บรักษา โดยขนาดของรูพรุนของกาแฟที่สามารถกักเก็บก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ดี คือ 17- 33 °Å (Anderson และคณะ, 2003) ขนาดของรูพรุนจะใหญ่ขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการคั่วกาแฟสูงขึ้น นอกจากนี้การลดปริมาณออกซิเจนเริ่มต้นสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชัน วิธีการ

บรรจุเพื่อลดปริมาณออกซิเจนเริ่มต้นที่นิยมคือ การบรรจุแบบสุญญากาศ และการบรรจุเพื่อลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นที่นิยมคือ การนำ non-return valve ของบริษัท Italian Goglio หรือ Hesser ที่เรียกว่า one way valve มาใช้ ซึ่งมีลักษณะเป็นวาล์วพลาสติกติดอยู่ที่ด้านบนของถุงบรรจุเพื่อลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในถุงบรรจุ และลดการซึมของออกซิเจนผ่านเข้าภายในถุง (Clarke และ Macrae, 1985) ซึ่งตัวอย่างถุงบรรจุกาแฟแบบติด one way valve แสดงได้ดังรูปที่ 16



รูปที่ 16 ถุงบรรจุกาแฟชนิดติด one way valve

ในบทนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมสำหรับกาแฟที่คั่วแล้ว รวมทั้งศึกษาปัจจัยอย่างอื่นที่อาจเกี่ยวข้องกับการเก็บกลิ่นรสของกาแฟ เช่น สภาพในการบรรจุว่าเป็นการบรรจุแบบสุญญากาศ อุณหภูมิที่เก็บ (8 และ 30 องศาเซลเซียส) มี one way valve และไม่มี one way valve ซึ่งยังไม่มีผู้ใดศึกษาสารประกอบระเหยของกาแฟคั่วในถุงบรรจุแบบ one way valve มาก่อน ทำการสกัดสารประกอบระเหยโดยวิธี headspace solid phase microextraction ใช้สารประกอบ cyclohexanone เป็น internal standard ($t_R = 5.62$ นาที) ระยะเวลาที่ใช้ศึกษากลิ่นรสหลังการบรรจุ คือ 15, 30, 60 และ 90 วัน สารประกอบระเหยที่เลือกใช้ ติดตามการเปลี่ยนแปลง ได้แก่ pyridine; 2-furanmethanolacetate; 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine; 1-(1-cyclohexen-1-yl)-ethanone; 5H-5-methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine และ 4-ethyl-2-methoxyphenol

สารประกอบระเหยที่เลือกใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้มีความสำคัญต่อกลิ่นรสของกาแฟดังนี้

pyridine เกิดจากปฏิกิริยาไฟโรไลซิสของโปรตีนและการสลายตัวของไตรโกเนลลิน (trigonelline) ในระหว่างการคั่วกาแฟ (Maria และคณะ, 1996) จากรายงานของ Ryan และคณะ (2004) ซึ่งได้ทำการสกัดสารประกอบระเหยในกาแฟด้วยวิธี solid phase microextraction และตรวจวิเคราะห์สารประกอบระเหยโดยวิธี two-dimensional gas chromatography-time-of-flight ในกาแฟพบสารประกอบ pyridine และ 2-furanmethanolacetate และจากรายงานของ Deiber และคณะ (2004) ได้ศึกษาถึงสารประกอบที่ให้กลิ่นหอมของเมล็ดกาแฟคั่วในระหว่างการบด สารประกอบระเหยที่พบในระหว่างการบด ได้แก่ pyridine; 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine และพบว่า 4-ethyl-2-methoxyphenol ซึ่งให้กลิ่นฟีนอลมีการเพิ่มขึ้นตามระดับการคั่ว 1-(1-cyclohexen-1-yl)-ethanone จัดเป็นสารประกอบไซคลิกคีโตนซึ่งให้กลิ่นที่มีความหลากหลาย กลิ่นที่พบ ได้แก่ กลิ่นหวาน (sweet) กลิ่นฉุน (pungent) และกลิ่นผลไม้ (fruity) (Clarke และคณะ, 1985) 5H-5-methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine จัดเป็นอนุพันธ์ของไพราซีนที่มีหมู่อัลคิล (alkyl) เป็นองค์ประกอบ ซึ่งให้กลิ่นถั่ว (nutty) กลิ่นคั่ว (roasted) กลิ่นไหม้ (burnt) กลิ่นฉุน (pungent) และกลิ่นเหม็นเขียว (grassy) (Clarke และคณะ, 1985) นอกจากนี้สารประกอบที่ให้กลิ่นรสเหล่านี้ยังเป็นองค์ประกอบที่มีปริมาณสูง มี peak ที่ปรากฏบนโครมาโตแกรมค่อนข้างชัดเจน สามารถสกัดและตรวจติดตามเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงได้ง่าย มีสารประกอบหลายชนิดที่บ่งบอกถึงความสดใหม่ของกาแฟคั่วและเป็นสารประกอบระเหยที่สำคัญที่บ่งบอกถึงกาแฟมีคุณภาพด้านกลิ่นรสที่ดี ได้แก่ เฟอฟูริลไทออล และไดเมทิลไดซัลไฟด์ (Clarke และ Macrae, 1985) อัตราส่วนของสารประกอบ methylfuran กับ 2-butanone ซึ่งเรียกว่า aroma index (Teranishi และคณะ, 1999) สารประกอบอัลดีไฮด์ และสารประกอบคีโตน (Clarke และ Macrae, 1985) แต่สารประกอบเหล่านี้มีปริมาณน้อยมากและไม่เสถียรทำให้ไม่สามารถตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงได้

4.3 วัตถุดิบ

เมล็ดกาแฟอาราบิก้า (*Coffea arabica*) สายพันธุ์ H.528/46 จากศูนย์บริการวิชาการด้านพืช และปัจจัยการผลิตตาก 1 กรมวิชาการเกษตร ตำบลแม่ท้อ อำเภอเมือง จังหวัดตาก ที่ผ่านกระบวนการผลิตแบบเปียก และผ่านกระบวนการคั่วแบบปานกลาง (อุณหภูมิประมาณ 210 องศาเซลเซียส เวลาประมาณ 6 นาที)

4.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

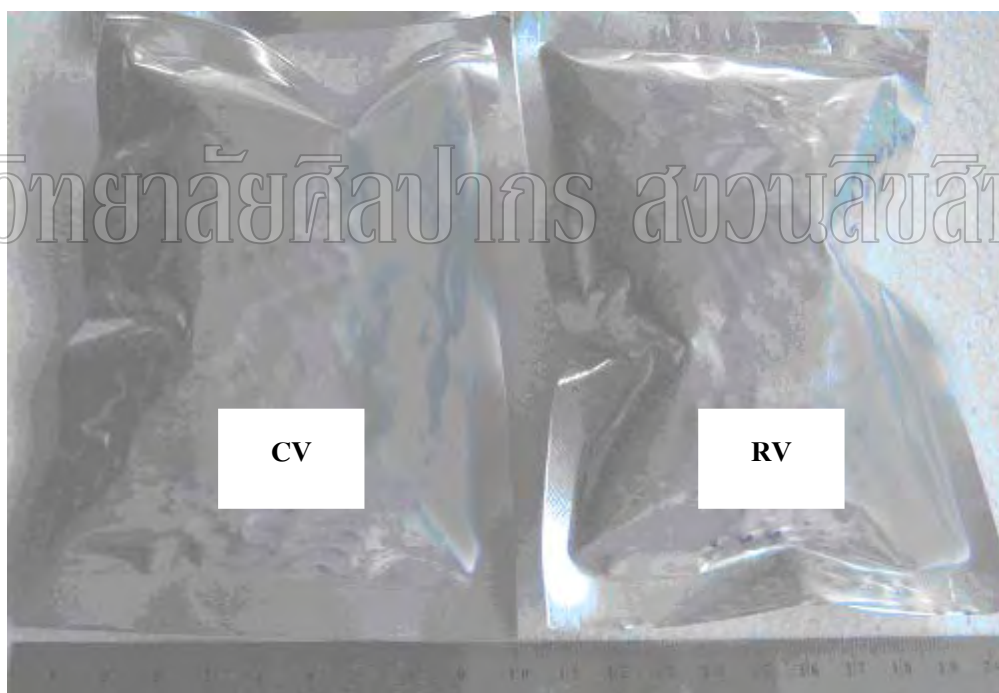
1. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง (BP3100S) บริษัท Sartorius, Germany
2. เครื่องปิดผนึกสุญญากาศ (Henkovac 1000, Europac, Thailand)
3. เครื่อง Gas Chromatography (Hewlett-Packard HP6890 series) บริษัท Hewlett-Packard, USA
4. เครื่อง Mass Selective Detector (Hewlett-Packard HP 5973 Series) บริษัท Hewlett-Packard, USA
5. คอลัมน์ HP-5 (Agilent Technology Inc.) เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร ยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร
6. ก๊าซฮีเลียม 99.99%
7. ไฟเบอร์สำหรับสกัดสารจากกาแฟแบบ solid phase microextraction ชนิด polydimethyl siloxane ความหนา 100 ไมโครเมตร ความยาว 1 เซนติเมตร (Supelco, USA)
8. Holder solid phase microextraction for manual sampling (Supelco, USA)
9. เครื่องคั่วกาแฟ (Precision coffee Roaster, 40201, USA)
10. เครื่องบดกาแฟ (Precision Café Grinder, 2199, USA)
11. ตะแกรงร่อนขนาด 18 เมช (1.0 มิลลิเมตร)
12. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
13. ถุงบรรจุชนิด PET/PE/Al/LLDPE (ภาคผนวก ก)
14. ถุงบรรจุชนิด PET/PE/Al/LLDPE ติด one way valve
15. ขวดแก้วปิดสนิทขนาด 20 มิลลิลิตร
16. ไมโครไซรินจ์ 10 ไมโครลิตร
17. internal standard (cyclohexanone 5,000 mg/l ใน 0.1 M HCl)

4.5 วิธีการดำเนินงานวิจัย

4.5.1 การเตรียมตัวอย่างกาแฟั่วในถุงบรรจุ

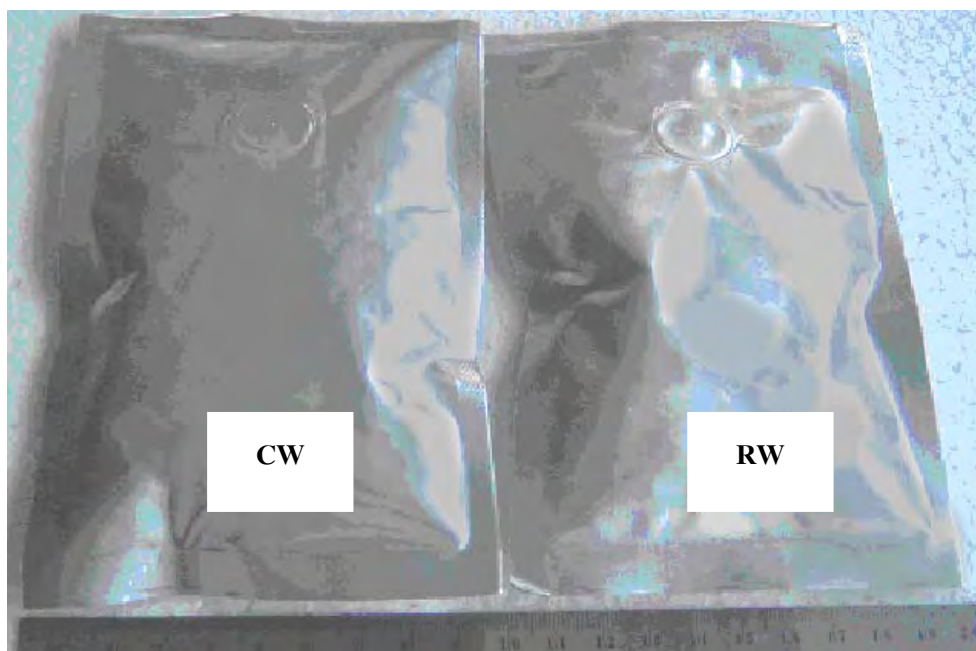
นำเมล็ดกาแฟั่วแบบปานกลางบรรจุในถุงบรรจุชนิด PET/PE/Al/LLDPE น้ำหนักบรรจุ 25 กรัม ขนาดถุงบรรจุเท่ากับ 9.0 cm x 15.0 cm สภาวะการบรรจุมี 4 แบบ คือ

1. บรรจุแบบสุญญากาศ และเก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CV) (รูปที่ 17)
2. บรรจุแบบปกติชนิดติด one way valve ที่ถุง และเก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CW) (รูปที่ 18)
3. บรรจุแบบสุญญากาศ และเก็บที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) (RV) (รูปที่ 17)
4. บรรจุแบบปกติ ชนิดติด one way valve ที่ถุง และเก็บที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) (RW) (รูปที่ 18)



รูปที่ 17 ถุงบรรจุกาแฟั่วชนิด PET/PE/Al/LLDPE

รูปซ้ายมือแสดงการบรรจุเมล็ดกาแฟั่วแบบ CV และรูปขวามือแสดงการบรรจุเมล็ดกาแฟั่วแบบ RV



รูปที่ 18 ถุงบรรจุกาแฟคั่วชนิด PET/PE/AL/LLDPE

รูปซ้ายมือแสดงการบรรจุเมล็ดกาแฟคั่วแบบ CW และรูปขวามือแสดงการบรรจุเมล็ดกาแฟคั่ว

แบบ RW

4.5.2 การติดตามการเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยที่สภาวะการบรรจุและเวลาต่างกัน

นำกาแฟที่อายุการเก็บต่างๆ ดังนี้ ได้แก่ 15, 30, 60 และ 90 วัน มาทำการสกัดสารประกอบระเหยโดยวิธี headspace solid phase microextraction ใช้ไฟเบอร์ชนิดชนิดโพลีไดเมทิลไซลอกเซน (polydimethyl siloxane) ความหนา 100 ไมโครเมตร ความยาว 1 เซนติเมตร (Supelco, USA) ขั้นตอนการสกัดเริ่มจากบดตัวอย่างกาแฟ เป็นเวลา 15 วินาที ร้อนผ่านตะแกรง 18 เมช (1.0 มิลลิเมตร) ใช้ตัวอย่างกาแฟที่ผ่านการบดและร่อน 2.5 กรัม บรรจุในขวดแก้วปิดสนิท ขนาด 20 มิลลิลิตร ผิดสารประกอบ cyclohexanone 5,000 mg/l ใน 0.1 M HCl ซึ่งใช้เป็น internal standard 1 ไมโครลิตร (ภาคผนวก ข) ใช้เวลาในการสกัด 30 นาที อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดคือ 60 องศาเซลเซียส สารประกอบระเหยที่เลือกใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลง ได้แก่ pyridine; 2-furan methanolacetate; 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine; 1-(1-cyclohexen-1-yl)-ethanone; 5H-5-methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine และ 4-ethyl-2-methoxyphenol

4.5.3 สภาวะเครื่องโครมาโตกราฟี – แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Gas chromatography-mass spectrometer)

การวิเคราะห์สารประกอบระเหยโดยใช้ เครื่อง gas chromatography (model HP 6890, Hewlett Packard) ตรวจวิเคราะห์ด้วย mass selective detector HP 5973 (Agilent Technologies) ชนิดของคอลัมน์ คือ fused silica capillary column HP-5, biphenyldimethylpolysiloxane (Agilent Technologies) เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร ความยาว 30 เมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร ใช้ก๊าซฮีเลียมเป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหลของก๊าซที่ 1.2 มิลลิลิตร/นาที อุณหภูมิ คอลัมน์เริ่มต้นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียส /นาที จนมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึง 150 องศาเซลเซียส ตั้งอุณหภูมิของ injector เท่ากับ 250 องศาเซลเซียส splitless mode 60 วินาที ส่วนของดีเทกเตอร์ตั้งอุณหภูมิของ ion source 230 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของ quadrupole 150 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิของ MS interface 280 องศาเซลเซียส โดยวิเคราะห์ mass(m/z) ในช่วง 40-400 amu การบ่งบอกชนิดของสารประกอบระเหยที่ตรวจพบโดยเปรียบเทียบ mass spectral data ที่ได้จาก NIST library พื้นที่ใต้ peak จะคำนวณโดย chemstation software version 2.0 (Hewlett Packard)

4.5.4 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ split plot จัด whole plot (ชนิดการบรรจุทั้ง 4 ชนิด) แบบ randomized completely block design (RCBD) โดยกำหนด block คือ lot ของการคั่วกาแฟ sub-plot คือ เวลาในการเก็บรักษา วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติด้วยโปรแกรม statistical analysis system program (SAS Institute, Inc.,1985, version 8.1)

4.6 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจากการเก็บเมล็ดกาแฟคั่วในถุงบรรจุทุกสภาวะการเก็บคือ มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นทำให้ ถุงบรรจุพองตัว ซึ่งในถุงบรรจุแบบ one way valve จะมี valve ปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้ถุงบรรจุภัณฑ์ไม่พองมากเหมือนกับการบรรจุแบบสุญญากาศ ซึ่งแสดงได้ดังรูปที่ 17 และ รูปที่ 18 ผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของ Clarke และคณะ (1985); Anderson และคณะ (2003) ซึ่งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากปฏิกิริยาหลายๆ แบบ ได้แก่ ปฏิกิริยาการสลายตัวแบบสเตอร์เกอร์ (Strecker degradation) ปฏิกิริยาไพโรไลซิสของน้ำตาล (Pyrolysis of sugar) ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) สารให้

กลิ่นรสของกาแฟที่เกิดขึ้นจะถูกกักเก็บไว้ในเมล็ดกาแฟ และแพร่ออกมาอย่างช้าๆพร้อมการปลดปล่อยของกาซคาร์บอนไดออกไซด์

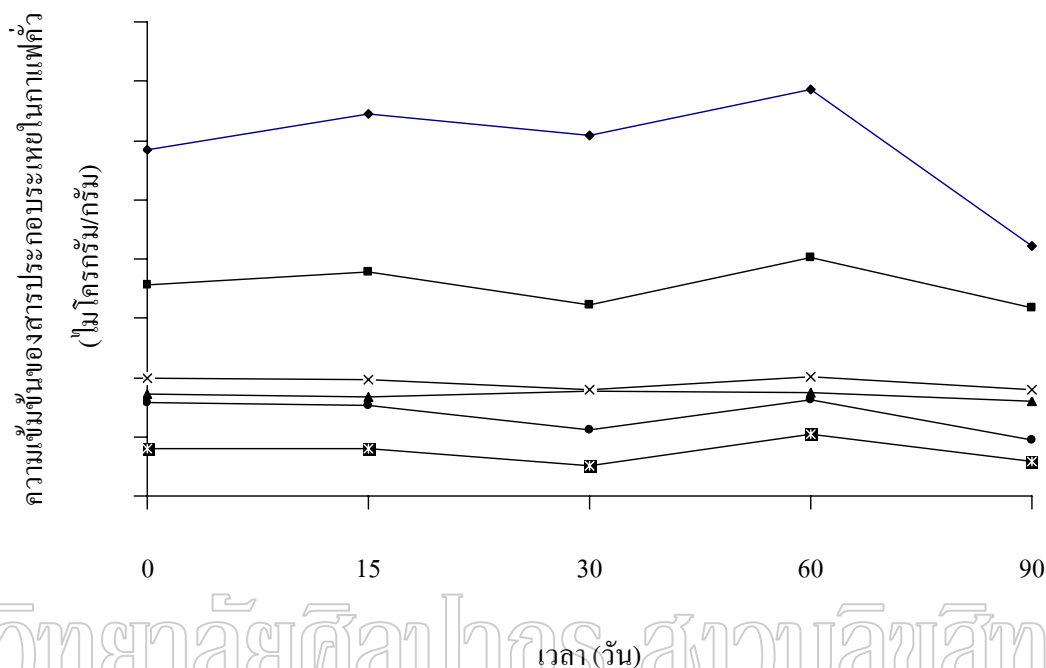
สิ่งที่ต้องคำนึงถึงเป็นอย่างยิ่งของการเลือกใช้สภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ คือ ถูบรรจุควรมีปริมาตรพอเพียงสำหรับการรองรับกาซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น เนื่องจากไม่มีวาล์วสำหรับปลดปล่อยกาซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น (Anderson และคณะ, 2003) ถูบรรจุทั้ง 2 แบบมีข้อดี และข้อเสีย แตกต่างกันไป ได้แก่ ถูบรรจุแบบสุญญากาศต้องมีเครื่องบรรจุสุญญากาศ ซึ่งมีราคาค่อนข้างสูง และกลิ่นรสของสารประกอบระเหยบางชนิดอาจสูญเสียไป เช่น methylfuran กับ 2-butanone ซึ่งเรียกว่า aroma index เป็นสิ่งที่บ่งถึงความสดใหม่ของกาแฟคั่ว ซึ่งสารประกอบทั้งสองชนิดไม่สามารถตรวจพบในกาแฟที่บรรจุในภาชนะบรรจุสุญญากาศ (Teranishi และคณะ, 1999) ส่วนข้อดีของถูบรรจุชนิดนี้ได้แก่ ถูบรรจุแบบนี้มีลักษณะปิดสนิท และไม่มีปริมาณออกซิเจนในถูบรรจุ หรืออาจมีแต่ในปริมาณที่น้อยมาก ซึ่งช่วยลดการเกิดออกซิเดชันกับสารประกอบระเหยซึ่งสารประกอบเหล่านี้ระเหยได้ง่าย และมีปริมาณน้อย การลดปริมาณออกซิเจนเป็นการช่วยลดการสูญเสียกลิ่นรสที่สำคัญไป ซึ่งในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมได้กำหนดให้ภาชนะที่ใช้บรรจุกาแฟคั่วต้องสะอาด แห้ง ปิดได้สนิท ป้องกันความชื้นได้ และสามารถเก็บรักษากลิ่นรสของกาแฟคั่วไว้ได้ (มอก. 522, 2527)

ข้อดีของถูบรรจุแบบติด one way valve ที่ถู คือ ถูบรรจุชนิดนี้มีราคาไม่สูง ถูบรรจุแบบติด one way valve ช่วยลดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ในถูบรรจุ และลดการซึมของออกซิเจนผ่านเข้าภายในถู (Clarke และ Macrae, 1985) และผู้บริโภครู้สึกว่าผลิตภัณฑ์สามารถได้กลิ่นหอมเล็กน้อยของกาแฟที่ปลดปล่อยออกมาซึ่งสามารถดึงดูดใจผู้บริโภคได้ในระดับหนึ่ง ส่วนข้อเสียของการเลือกใช้ถูบรรจุกาแฟแบบนี้คือ ในขณะที่วาล์วนี้ปลดปล่อยกาซคาร์บอนไดออกไซด์ได้มีสารประกอบระเหยถูกปลดปล่อยออกมาด้วยทำให้กลิ่นหอมของกาแฟที่บรรจุในถูเหล่านี้อาจจะลดน้อยลงเมื่อเวลาผ่านไป

4.6.1 การเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยที่สภาวะการเก็บในถูบรรจุแบบสุญญากาศ และเก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CV)

ในถูบรรจุแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CV) พบว่าที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน สารประกอบระเหยทุกตัว ได้แก่ pyridine; 2-furanmethanolacetate; 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine; 1-(1-cyclohexen-1-yl)-ethanone; 5H-5-methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine และ 4-ethyl-2-methoxyphenol ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (ตารางที่ 6) นั่นคือ

ปริมาณสารประกอบระเหยในกาแฟเหล่านี้มีเปลี่ยนแปลงน้อยมาก เมื่อเก็บในสภาวะการเก็บแบบสุญญากาศ อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CV) ซึ่งปริมาณสารประกอบระเหยที่ระยะเวลาการเก็บต่างกันแสดงได้ดังรูปที่ 19 และตารางที่ 6



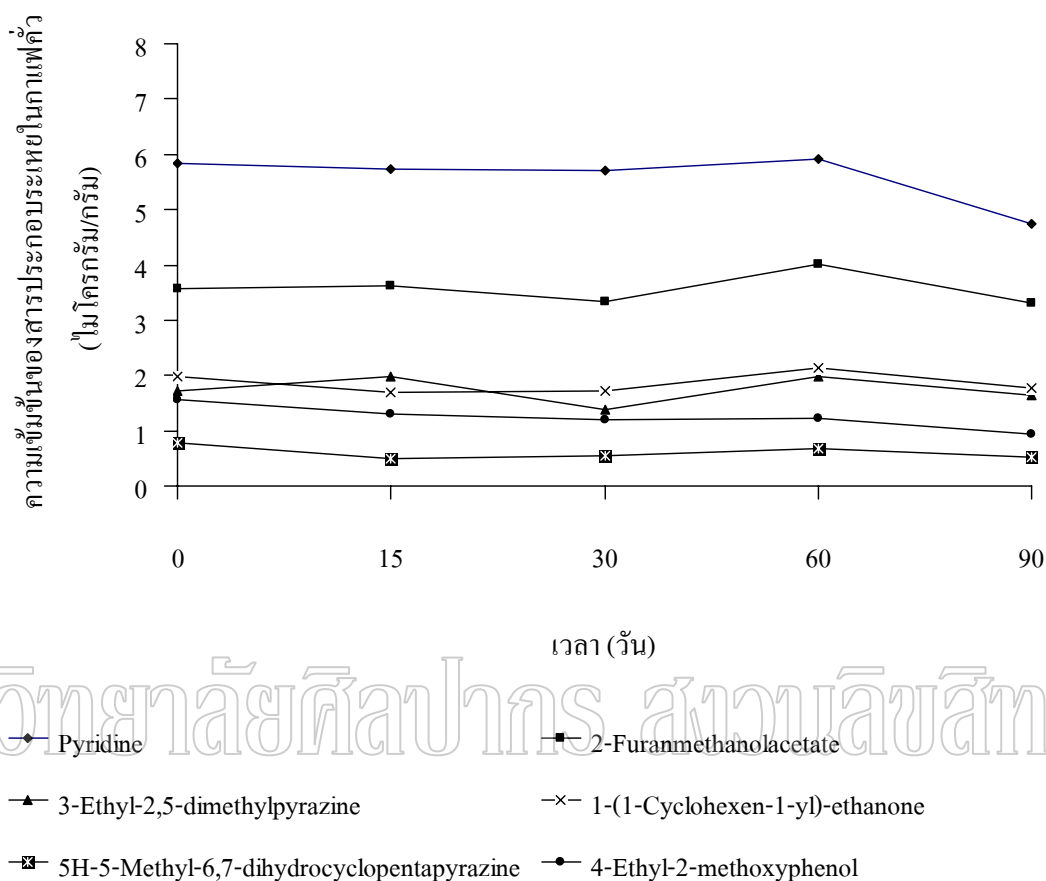
- ◆ Pyridine
- 2-Furanmethanolacetate
- ▲ 3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine
- × 1-(1-Cyclohexen-1-yl)-ethanone
- ⊠ 5H-5-Methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine
- 4-Ethyl-2-methoxyphenol

รูปที่ 19 ปริมาณสารประกอบระเหยในถุงบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

4.6.2 การเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยที่สภาวะการเก็บในถุงบรรจุแบบ one way valve และเก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CW)

ในถุงบรรจุแบบ one way valve เก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CW) พบว่าผลการทดลองเป็นไปในทำนองเดียวกันกับในถุงบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CV) คือ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน สารประกอบระเหยทุกตัว ได้แก่ pyridine; 2-furan methanolacetate; 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine; 1-(1-cyclohexen-1-yl)-ethanone; 5H-5-methyl-

6,7-dihydrocyclopentapyrazine และ 4-ethyl-2-methoxyphenol ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (ตารางที่ 7) ปริมาณสารประกอบระเหยที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ แสดงได้ดังรูปที่ 20

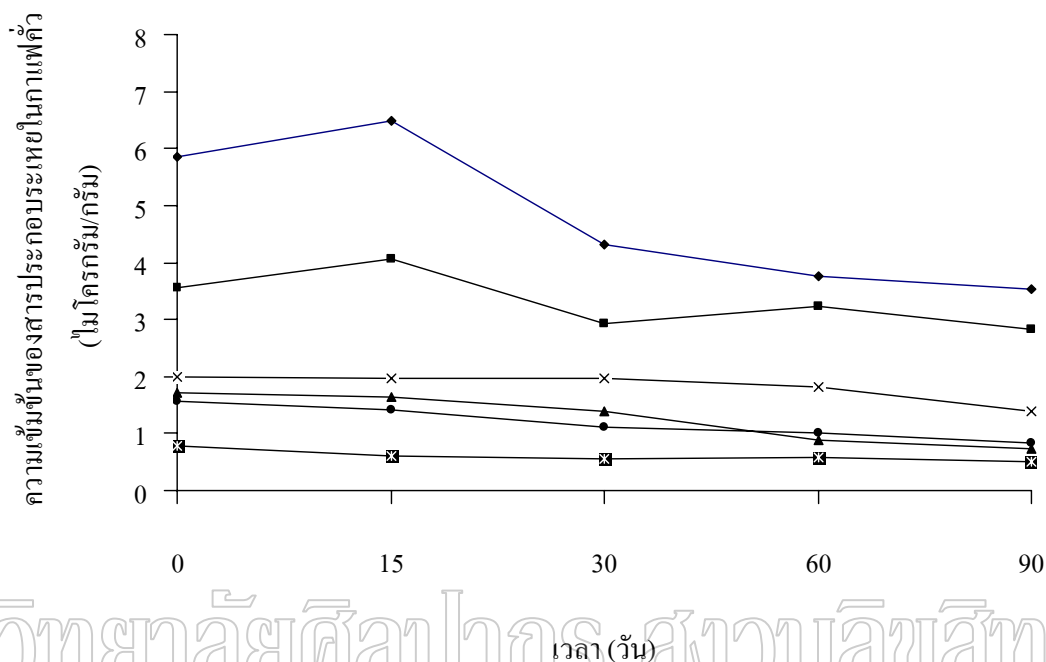


รูปที่ 20 ปริมาณสารประกอบระเหยในถุงบรรจุแบบ one way valve เก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

4.6.3 การเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยที่สภาวะการเก็บในถุงบรรจุแบบสุญญากาศ และเก็บที่อุณหภูมิห้อง (RV)

จากรูปที่ 21 และตารางที่ 8 สารประกอบ pyridine; 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine และ 4-ethyl-2-methoxyphenol มีปริมาณลดลงที่ระยะเวลาในการเก็บ 30 วัน ($p<0.05$) ซึ่งจากรายงานของ Deiber และคณะ(2004) ได้ตรวจพบสารประกอบ pyridine; 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine และ 4-ethyl-2-methoxyphenol ในระหว่างการอบคั่วกาแฟ และยังพบว่ากลิ่นหอมของกาแฟคั่วที่เกิดขึ้นระหว่างการอบคั่วได้พอๆ กับกลิ่นหอมของกาแฟที่นำมาชงเป็นเครื่องดื่ม แต่กลิ่นหอมเหล่านี้สามารถระเหยได้ง่ายและไม่คงทน ซึ่งจากการทดลองสารประกอบทั้ง 3 ชนิด น่าจะมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อกลิ่นรสของกาแฟ แต่จากรายงานของ Deiber และคณะ (2004) ซึ่งตรวจ

พบสารประกอบ 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine แต่ในการทดลองเราตรวจพบ 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine เนื่องจากอนุพันธ์ของไพราซีน มีหลายไอโซเมอร์ซึ่งเครื่อง GC-MS ธรรมดาไม่สามารถบ่งชี้ได้ (Ryan และคณะ, 2004)

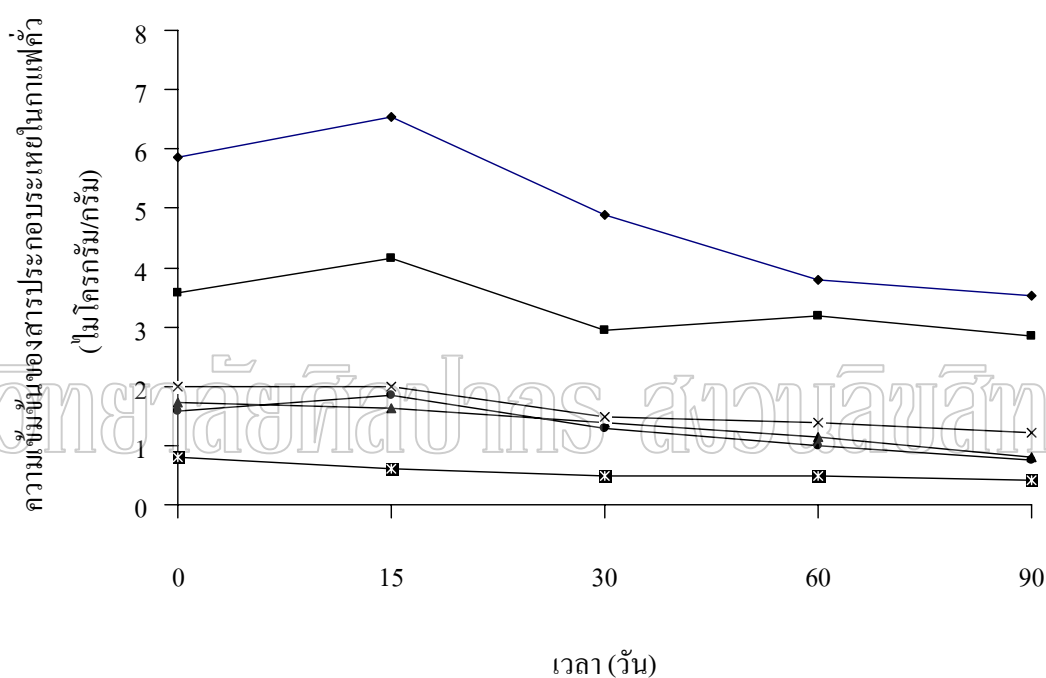


รูปที่ 21 ปริมาณสารประกอบระเหยในถุงบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิห้องที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

4.6.4 การเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยที่สภาวะการเก็บในถุงบรรจุแบบ one way valve และเก็บที่อุณหภูมิห้อง (RW)

พบว่าปริมาณสารประกอบ pyridine มีปริมาณลดลงอย่างเห็นได้ชัดที่เวลา 30 วัน ($p < 0.05$) ในขณะที่สารประกอบ 5H-5-methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine มีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วที่เวลา 15 วัน ($p < 0.05$) ปริมาณการเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยแสดงได้ดังรูปที่ 22 และตารางที่ 9

สารประกอบ 5H-5-methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine จัดเป็นสารประกอบอนุพันธ์ไพราซีน ที่อยู่ร่วมกับ cyclic hydrocarbon และมีหมู่อัลคิลเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างการคั่วกาแฟ อนุพันธ์ของไพราซีนที่มีหมู่อัลคิล (alkyl) เป็นองค์ประกอบ ให้กลิ่นถั่ว (nutty) กลิ่นคั่ว (roasted) กลิ่นไหม้ (burnt) กลิ่นฉุน (pungent) และกลิ่นเหม็นเขียว (grassy) (Clarke และคณะ, 1985) เมล็ดกาแฟที่ผ่านการคั่วแล้วจะพบสารในกลุ่ม ไพราซีน (pyrazine) มากเป็นอันดับสอง ซึ่งสารในกลุ่มนี้จะมีค่าต่ำสุดของการรับรู้รสชาติ (threshold value) สารประกอบในกลุ่มไพราซีนจึงมีความสำคัญในการให้กลิ่นรสของกาแฟ (Coffee Research Institute, 2001)



- ◆ Pyridine
- 2-Furanmethanolacetate
- ▲ 3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine
- × 1-(1-Cyclohexen-1-yl)-ethanone
- ⊠ 5H-5-Methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine
- 4-Ethyl-2-methoxyphenol

รูปที่ 22 ปริมาณสารประกอบระเหยในถุงบรรจุแบบ one way valve เก็บที่อุณหภูมิห้องที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

4.6.5 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบระเหยในกาแฟตลอดระยะเวลาการเก็บ 90 วัน ภายใต้สภาวะการบรรจุแตกต่างกัน

ในการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบระเหยในเมล็ดกาแฟคั่วที่เก็บในถุงบรรจุทั้ง 4 แบบ ที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน ทำได้โดยนำมาทดสอบความแตกต่างทางสถิติใช้แผนการทดลองแบบ split plot โดย whole plot คือ ชนิดการบรรจุทั้ง 4 ชนิด block คือ lot ของการคั่วกาแฟ sub-plot คือ เวลาในการเก็บรักษา จากนั้นทำการวิเคราะห์โดยคำนวณ linear regression สำหรับแต่ละภาชนะบรรจุ ตลอดช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 90 วัน ตัวอย่าง SAS code ของการวิเคราะห์ และผลการวิเคราะห์สามารถดูได้จากภาคผนวก ก และจากตารางที่ 5 ซึ่งแสดงระดับนัยสำคัญ (P value) ของความชันของถุงบรรจุทั้ง 4 แบบ พบว่า สารประกอบระเหยในกาแฟที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน ในถุงบรรจุทั้ง 4 แบบ พบว่าปริมาณสารประกอบ pyridine และ 4-ethyl-2-methoxyphenol ในเมล็ดกาแฟคั่ว ที่เก็บในถุงบรรจุแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CV) มีปริมาณไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดช่วงระยะเวลาการเก็บ 90 วัน ($P=0.2920$) ส่วนสภาวะอื่นๆที่เหลือพบว่ามีปริมาณลดลง สารประกอบ 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine และ 1-(1-cyclohexen-1-yl)-ethanone ในเมล็ดกาแฟคั่วที่เก็บในถุงบรรจุแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CV) และในถุงบรรจุแบบ one way valve ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CW) มีปริมาณไม่เปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกัน สารประกอบ 2-furanmethanol acetate และ 5H-5-Methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine ในเมล็ดกาแฟคั่วที่เก็บในถุงบรรจุทั้ง 4 แบบ (ถุงบรรจุแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CV) ถุงบรรจุแบบ one way valve ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CW) ถุงบรรจุแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิห้อง (RV) และในถุงบรรจุแบบ one way valve ที่อุณหภูมิห้อง (RW)) มีปริมาณไม่เปลี่ยนแปลงตลอดช่วงระยะเวลาการเก็บ 90 วัน

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบความแตกต่างของความชื้นของสารประกอบระเหยในกาแฟที่ระยะเวลาในการเก็บต่างกันในถุงบรรจุทั้ง 4 แบบ

	ระดับนัยสำคัญ (P value)			
	CV	CW	RV	RW
Pyridine	0.2920	0.0106	0.0013	0.0011
2-Furanmethanolacetate	0.3023	0.0981	0.0751	0.1412
3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	0.1537	0.0585	<0.0001	0.0019
1-(1-Cyclohexen-1-yl)ethanone	0.0663	0.1412	0.0380	0.0478
5H-5-Methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine	0.7462	0.9072	0.6416	0.3623
4-Ethyl-2-methoxyphenol	0.4882	0.0133	0.0114	0.0003

4.7 สรุปผลการทดลอง

สารประกอบระเหยในกาแฟที่เก็บในถุงบรรจุแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CV) และถุงบรรจุแบบ one way valve ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CW) มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากที่ระยะเวลาการเก็บ 90 วัน ถุงบรรจุแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิห้อง (RV) สารประกอบ pyridine; 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine และ 4-ethyl-2-methoxyphenol มีปริมาณลดลงที่ระยะเวลาในการเก็บ 30 วัน และถุงบรรจุแบบ one way valve ที่อุณหภูมิห้อง (RW) สารประกอบ pyridine มีปริมาณลดลงอย่างเห็นได้ชัดที่เวลา 30 วัน ในขณะที่สารประกอบ 5H-5-methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine มีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วที่เวลา 15 วัน

จากแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบระเหยในกาแฟ ในระหว่างการเก็บเมื่อใช้สภาวะการบรรจุต่างกันพบว่า ถุงบรรจุแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CV) สามารถเก็บรักษาสารประกอบระเหยได้ดีที่สุด รองลงมาคือถุงบรรจุแบบติด one way valve ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CW) ส่วนถุงบรรจุแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิห้อง (RV) และถุงบรรจุแบบติด one way valve ที่อุณหภูมิห้อง (RW) สามารถเก็บรักษาสารประกอบระเหยของกาแฟได้ไม่ต่างกัน

อย่างไรก็ตามอุณหภูมิในการเก็บส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบระเหยมากกว่าชนิดของถังบรรจุ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารประกอบระเหยในกาแฟไม่เสถียรและสลายตัวได้ง่ายเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิสูง เมื่ออุณหภูมิในการเก็บเพิ่มขึ้นจาก 8 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จึงส่งผลให้สารประกอบระเหยสลายตัวได้ง่ายขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป ในถังบรรจุแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CV) สามารถเก็บรักษาสารประกอบระเหยในกาแฟได้ดีกว่า ถังบรรจุแบบติด one way valve ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CW) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเก็บกาแฟในถังสุญญากาศ มีการปรับสถานะให้เป็นสุญญากาศ เพื่อลดการเกิดออกซิเดชันตั้งแต่เริ่มต้น ซึ่งสารให้กลิ่นรสต่างๆ ยังคงเกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเมล็ดกาแฟั่วโดยสังเกตได้จากการพองของถังบรรจุ ส่วนถังแบบ one way valve ในช่วงแรกของการบรรจุ ถึงจะพยายามลดกาซที่มีอยู่ให้น้อยที่สุด แต่ก็ยังคงมีกาซต่างๆหลงเหลืออยู่ ซึ่งกาซที่หลงเหลืออยู่นี้อาจเกิดออกซิเดชันกับสารประกอบระเหยที่ให้กลิ่นรสในเมล็ดกาแฟ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 6 ความเข้มข้นของสารประกอบระเหยในเมล็ดกาแฟคั่ว ในอุ้งบรรจุแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CV) ที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

t _R	สารประกอบ	ความเข้มข้นของสารประกอบระเหย (ไมโครกรัมต่อกรัม)				
		เริ่มต้น	15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
2.29	Pyridine	5.850	6.452	6.094	6.871	4.226
9.39	2-Furanmethanolacetate	3.565	3.775	3.228	4.033	3.179
12.41	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	1.725	1.671	1.773	1.748	1.594
12.59	1-(1-Cyclohexen-1-yl)-ethanone	1.984	1.958	1.789	2.023	1.795
14.41	5H-5-Methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine	0.791	0.791	0.514	1.036	0.572
18.33	4-Ethyl-2-methoxyphenol	1.570	1.518	1.117	1.629	0.939

หมายเหตุ จำนวนข้อมูลในตาราง n=2

ตารางที่ 7 ความเข้มข้นของสารประกอบระเหยในเมล็ดกาแฟคั่ว ในอุ้งบรรจุแบบ one way valve ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (CW) ที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

t _R	สารประกอบ	ความเข้มข้นของสารประกอบระเหย (ไมโครกรัมต่อกรัม)				
		เริ่มต้น	15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
2.29	Pyridine	5.850	5.733	5.701	5.903	4.739
9.39	2-Furanmethanolacetate	3.565	3.616	3.331	4.024	3.305
12.41	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	1.725	1.983	1.371	1.972	1.630
12.59	1-(1-Cyclohexen-1-yl)-ethanone	1.984	1.698	1.717	2.130	1.768
14.41	5H-5-Methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine	0.791	0.497	0.540	0.674	0.529
18.33	4-Ethyl-2-methoxyphenol	1.570	1.308	1.201	1.227	0.941

หมายเหตุ จำนวนข้อมูลในตาราง n=2

ตารางที่ 8 ความเข้มข้นของสารประกอบระเหยในเมล็ดกาแฟคั่ว ในถังบรรจุแบบสูญญากาศ ที่อุณหภูมิห้อง (RV) ที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

t _R	สารประกอบ	ความเข้มข้นของสารประกอบระเหย (ไมโครกรัมต่อกรัม)				
		เริ่มต้น	15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
2.29	Pyridine	5.850 ^a	6.497 ^a	4.325 ^b	3.764 ^b	3.532 ^b
9.39	2-Furanmethanolacetate	3.565	4.068	2.920	3.219	2.821
12.41	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	1.725 ^a	1.652 ^a	1.382 ^b	0.889 ^c	0.742 ^d
12.59	1-(1-Cyclohexen-1-yl)-ethanone	1.984 ^a	1.977 ^a	1.961 ^a	1.815 ^a	1.392 ^a
14.41	5H-5-Methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine	0.791	0.603	0.548	0.578	0.501
18.33	4-Ethyl-2-methoxyphenol	1.570 ^{ab}	1.425 ^a	1.104 ^b	1.014 ^{bc}	0.821 ^c

หมายเหตุ ^{a,b,c,d} ตัวอักษรแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของข้อมูลที่เปรียบเทียบ ณ เวลาต่างกัน
จำนวนข้อมูลในตาราง n=2

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 9 ความเข้มข้นของสารประกอบระเหยในเมล็ดกาแฟคั่ว ในถังบรรจุแบบ one way valve ที่อุณหภูมิห้อง (RW) ที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

t _R	สารประกอบ	ความเข้มข้นของสารประกอบระเหย (ไมโครกรัมต่อกรัม)				
		เริ่มต้น	15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
2.29	Pyridine	5.850 ^a	6.529 ^a	4.877 ^b	3.792 ^c	3.521 ^c
9.39	2-Furanmethanolacetate	3.565	4.157	2.94	3.196	2.853
12.41	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	1.725	1.633	1.375	1.140	0.797
12.59	1-(1-Cyclohexen-1-yl)-ethanone	1.984	1.986	1.493	1.378	1.223
14.41	5H-5-Methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine	0.791 ^a	0.617 ^b	0.496 ^{bc}	0.476 ^{bc}	0.418 ^c
18.33	4-Ethyl-2-methoxyphenol	1.570	1.852	1.298	0.991	0.758

หมายเหตุ ^{a,b,c,d} ตัวอักษรแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของข้อมูลที่เปรียบเทียบ ณ เวลาต่างกัน
จำนวนข้อมูลในตาราง n=2

บรรณานุกรม

- งามทิพย์ ภู่วโรดม. 2537. ก๊าซกับการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร. โรงพิมพ์สำนักส่งเสริมและ
ฝึกอบรมมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 173 น.
- มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกาแฟคั่ว, มอก. 522-2527
- Anderson, B.A., Shimoni, E., Liardon, R. and Labuza, T.P. 2003. The diffusion kinetics of
carbon dioxide in fresh roasted and ground coffee. *Journal of Food Engineering* 59:
71-78.
- Clarke, R.J., and Macrae, R., editors. 1985. *Coffee, Vol. 1: Chemistry*. 1st ed. Elsevier Science
Publishers, London. 306 p.
- Coffee Research Institute. 2001. <http://www.coffeeresearch.org/science/aromaman.htm>
- Deiber, K.D. and Delwiche, J. 2004. *Handbook of Flavor and Characterization*. Marcel Dekker,
Inc. New York. 231-257 p.
- De Maria, C.A.B., Trugo, L.C., Neto, F.R.A., Moreira, R.F.A. and Alviano, C.S. 1996.
Composition of green coffee water-soluble fractions and identification of volatiles
formed during roasting. *Food Chemistry*. 55(3): 203-207.
- Ryan, D., Shellie, R., Tranchida, P., Casilli, A., Mondello, L. and Marriott, P. 2004. Analysis of
roasted coffee bean volatiles by using comprehensive two-dimensional gas
chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*
1054: 57-65.
- Sivetz, M. and Foote, H.E., 1963. *Coffee Processing Technology*. Vol 1: Fruit-Green, Roast and
soluble Coffee. The AVI Publishing Company, London. 598 p.
- Teranishi, R., Wick, E.L. and Hornstein, I. 1999. *Flavor Chemistry*. Kluwer Academic/Plenum
Publishers, New York. 258p.