

การหมักโกโก้

II: การศึกษาอิทธิพลของเอนไซม์เพคตินเนสต่อการหมักโกโก้ธรรมชาติ

Cocoa Fermentation :

Effect of Enzyme Pectinase on Natural Cocoa Fermentation

อรพิน ภูมิภมร และ จันทนา จินดา¹

Orapin Bhumibhamon and Jantana Jinda

ABSTRACT

The effects of enzyme pectinase on natural cocoa fermentation were studied by soaking cocoa beans in 200 ppm pectinase enzyme solution for a period of 0, 1, 3, 6 hour. The fermentation quality of fermented cocoa beans with added pectinase were shown to be more promising than those without enzyme batch. The amount of full fermented beans (4/4F) were increased concomitantly with the increasing of enzyme soaking period. Full fermented beans were found at 79 and 86 % of fermented beans in enzyme-soaking batches of 3 and 6 hours respectively. No slaty and mold beans were observed in these batches. This indicated that the quality of fermented beans was equivalent to standard grade 1. Additionally, it was found that the pH levels of full fermented beans were 5.49 and 5.92 which were acceptable in the cocoa market. Pectinase-producing microorganisms, therefore, would have an important role in cocoa fermentation processes.

Key words: pectinase enzyme, natural fermentation, cocoa fermentation

บทคัดย่อ

ในการศึกษาอิทธิพลของเอนไซม์เพคตินเนสต่อการหมักโกโก้ได้นำการแช่เมล็ดโกโก้ก่อนการหมักในสารละลายเอนไซม์เพคตินเนสที่มีความเข้มข้น

200 ppm เป็นระยะเวลา 0, 1, 3, 6 ชั่วโมง

จากผลการทดลองพบว่า การแช่เมล็ดโกโก้ในสารละลายเพคตินเนส มีผลทำให้การหมักโกโก้มีเมล็ดหมักสมบูรณ์มากขึ้นกว่าการหมักแบบธรรมชาติ โดยไม่มีการแช่เอนไซม์ นอกจากนี้ปริมาณเมล็ดหมัก

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Department of Biotechnology, Faculty of Agricultural Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

สมบูรณ์ (4/4F) ยังเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการแช่ กล่าวคือ ได้เมล็ดหมักสมบูรณ์ร้อยละ 79 และ 86 ของเมล็ดโกโก้หมักเมื่อทำการแช่นาน 3 และ 6 ชั่วโมงตามลำดับ โดยไม่พบเมล็ดที่ไม่เกิดการหมัก (slaty) พร้อมกับไม่พบเชื้อรา คุณภาพที่ปรากฏดังกล่าวนี้นี้ จัดได้ว่าอยู่ในมาตรฐานสากลเกรด 1 นอกจากนี้ยังพบว่า ความเป็นกรด-ด่าง ในเมล็ดหมักสมบูรณ์มีค่า 5.49 และ 5.92 ตามลำดับซึ่งเป็นค่ากรด-ด่างที่เป็นที่ยอมรับในการซื้อขายในตลาดโกโก้สากล จากผลของเมล็ดโกโก้หมักดังกล่าว อาจกล่าวได้ว่าจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เพคตินเอสที่อยู่ในกองหมักโกโก้ น่าจะมีบทบาทต่อกระบวนการหมักโกโก้ด้วย

คำนำ

ในการศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักโกโก้ในธรรมชาติ นั้น พบว่ามีทั้งยีสต์และแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เพคตินเอสเป็นจำนวนมาก โดยประสิทธิภาพการผลิตเพคตินเอสจะแตกต่างกันไป สำหรับจุลินทรีย์ที่ศึกษาพบว่า ยีสต์ *Saccharomyces chevalieri*-KU-Y150 ผลิตเพคตินเอสได้ดีที่สุด โดยผลิตเอนไซม์ได้ 113 EU/ml. ทำงานได้ดีที่ pH 4.5-5.5 ในขณะที่แบคทีเรีย *Bacillus* sp. KU-B190 ผลิตเอนไซม์ได้ 287 EU/ml. แต่ทำงานได้ดีที่ pH ค่อนข้างเป็นด่างคือที่ pH 8.0-9.0 (อรพิน และจินทนา, 2539; Jinap and Dimick, 1990) เอนไซม์เพคตินเอสนอกจากจะพบในจุลินทรีย์ที่มีในกองหมักโกโก้แล้ว ยังปรากฏอยู่ในเมล็ดโกโก้ด้วย (Wood and Lass, 1985) เอนไซม์เพคตินเอสมีส่วนทำให้เชื้อหุ้มเมล็ดโกโก้มีเมือกน้อยลง (Hakin and Sand, 1971) กล่าวคือเอนไซม์มีส่วนไปย่อยเชื้อหุ้มเมล็ดโกโก้ (pulp) มีผลทำให้สารอาหาร เช่น น้ำตาลหลุดออกจากเชื้อหุ้มเมล็ดด้วย ทำให้จุลินทรีย์ต่างๆ ที่มีบทบาทต่อการหมักโกโก้ โดยเฉพาะ ยีสต์สามารถนำน้ำตาลเหล่านั้นไปใช้

ผลิตแอลกอฮอล์ และอะซิติกแบคทีเรียจะเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติกมีผลต่อการเปลี่ยนสภาวะภายในกองหมัก ทั้งอุณหภูมิ และ pH โดยมีผลต่อการหมักโกโก้ให้เกิดเมล็ดโกโก้หมักสมบูรณ์

ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงประสงค์จะทราบอิทธิพลเอนไซม์เพคตินเอสต่อการหมักโกโก้ โดยการใช้เอนไซม์เพคตินเอสที่ผลิตเป็นการค้ามาศึกษาเกี่ยวกับการหมักโกโก้ เพื่อเป็นข้อมูลที่จะให้คณะวิจัยที่สนใจศึกษากล้าเชื้อที่ใช้หมักโกโก้พิจารณาว่าควรจะมีจุลินทรีย์กลุ่มผลิตเอนไซม์เพคตินเอสรวมอยู่ด้วยหรือไม่

อุปกรณ์และวิธีการ

นำเมล็ดโกโก้สดจำนวน 100 กิโลกรัมแบ่งออกเป็น 5 ส่วนๆ ละ 20 กิโลกรัม จากนั้นใส่เอนไซม์เพคตินเอสลงในส่วนละ 200 ppm. คลุกเคล้าให้เข้ากันแล้วแช่ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0, 1, 3, 6 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาหมักในลังไม้ (20 กก./ลัง) เปรียบเทียบกับการหมักโกโก้แบบธรรมชาติ (ไม่ใส่เอนไซม์) สำหรับภาชนะลังไม้ที่ใช้มีขนาด 30 x 30 x 40 เซนติเมตร ในระหว่างการหมักโกโก้จะทำการกลับกองในสองวันแรก และประเมินผลการหมักด้วยจำนวนเมล็ดโกโก้หมักสมบูรณ์ โดยวิธี cut test (Wood and Lass, 1985) พร้อมวิเคราะห์ fermentation index (Gourive and Tservitino, 1979) pH อุณหภูมิ กรดระเหย (ในรูปของกรดอะซิติก) และกรดไม่ระเหย (ในรูปของกรดแลคติก) (A.O.A.C., 1984) ในการทดลองหมักโกโก้ได้วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ

ผลและวิจารณ์

ในการศึกษาสารละลายเอนไซม์เพคตินเอสต่อการหมักโกโก้ นั้นได้แช่เมล็ดในเอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 200 ppm เป็นระยะเวลา 0, 1, 3, 6 ชั่วโมง ก่อนนำ

มาหมักตามธรรมชาตินั้นพบว่า การใช้เอนไซม์เพคตินเนสมีผลทำให้การหมักโกโก้ดีขึ้นตามระยะเวลาของการแช่เอนไซม์เพคตินเนส

1. เมล็ดหมักสมบูรณ์

ในระหว่างการหมักโกโก้ตรวจสอบคุณภาพเมล็ดโกโก้ด้วยวิธี cut test ในวันที่ 2, 3, 4 และ 5 ของการหมักตามลำดับ โดยเมล็ดที่มีการหมักสมบูรณ์ (4/4F), เมล็ดที่มีการหมักเกือบสมบูรณ์ (3/4F) เมล็ดที่การหมักไม่สมบูรณ์ (2/4F และ 1/4F) เมล็ดที่ไม่เกิดการหมัก (slaty) และเมล็ดที่เป็นรา พบว่า โกโก้ที่แช่สารละลายเอนไซม์ 0, 1, 3, 6 ชั่วโมง มีจำนวนเมล็ดที่หมักสมบูรณ์ในวันที่ 3 ของการหมัก 46, 43, 79, 86 % ตามลำดับ ส่วนเมล็ดโกโก้หมักแบบธรรมชาติมีเมล็ดหมักสมบูรณ์ 34 % (Table 1)

2. การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและดัชนีการหมัก

จากผลการทดลอง พบว่าเมล็ดโกโก้ที่ผ่านการแช่เอนไซม์เพคตินเนสมีคุณภาพดีกว่าเมล็ดโกโก้ที่ได้จากการหมักแบบธรรมชาติ เนื่องจากมีความสมบูรณ์ของการหมักที่ดีกว่า ซึ่งจากผลการศึกษาอุณหภูมิในระหว่างการหมัก พบว่า ทุกกองหมักจะมีอุณหภูมิ

เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันแรก หลังจากนั้นจึงลดลงอยู่ระหว่าง 42-41°C. ในวันที่ 2 และ 3 ของการหมักสำหรับกองหมักโกโก้แบบธรรมชาติมีอุณหภูมิ 39.7°C (Figure 1) ส่วนค่าดัชนีการหมักของเมล็ดโกโก้ที่แช่เอนไซม์เพคตินเนสก่อนการหมักมีค่าสูงกว่า 1.0 ในวันที่ 3 ของการหมัก โดยเมล็ดโกโก้ที่แช่เอนไซม์เพคตินเนส 3, 6 ชั่วโมง มีค่าดัชนีการหมักเท่ากับ 1.182 และ 1.184 ตามลำดับ สำหรับเมล็ดโกโก้ที่หมักแบบธรรมชาติมีค่าดัชนีการหมักต่ำกว่าคือมีค่า 0.903 (Figure 1)

3. การเปลี่ยนแปลงของกรดระเหยและกรดไม่ระเหย

จากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิพบว่า สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดระเหย ปริมาณกรดไม่ระเหย และค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดระเหยในเมล็ดโกโก้ที่แช่เอนไซม์เพคตินเนสจะสูงในวันที่ 1-3 ของการหมัก ซึ่งกรดระเหยนี้จะแตกตัวเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้อุณหภูมิในกองหมักเพิ่มขึ้น (Quesnel, 1956; Wood and Lass, 1985) ส่งผลให้ปริมาณกรดระเหยลดลงในระยะสุดท้ายของการหมัก โดยเมล็ดโกโก้ที่แช่เอนไซม์นาน 6 และ 3 ชั่วโมง มีปริมาณกรดระเหยเมื่อสิ้นสุดการหมัก 0.066 และ 0.181

Table 1 Effect of soaking with enzyme pectinase on cocoa fermentation.

Sample	Fermented cocoa bean (%) .		
	4/4F	3/4F	2/4-1/4F
Natural fermented cocoa bean	34 ^a	42 ^a	
Period of cocoa soaking in pectinase solution (hr.)			
0	46 ^d	34 ^d	17 ^a
1	43 ^d	18 ^b	18 ^a
3	79 ^c	21 ^c	
6	86 ^b	18 ^b	

Different superscripts in the same column differ significantly ($P < 0.05$) from each other

% ซึ่งต่ำกว่าเมล็ดโกโก้จากกองหมักอื่นๆ (Figure 2)

สำหรับปริมาณกรดไมระเหย พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยในวันแรกของการหมักและจะเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่าง 0.042-0.55 % ในวันที่ 2-4 ของการหมัก (Figure 2) เมื่อสิ้นสุดการหมักพบว่า เมล็ดโกโก้ที่ได้จากการหมักที่แช่เย็น 6 ชั่วโมงมีปริมาณกรดไมระเหยเพียง 0.160 % ในขณะที่เมล็ดโกโก้หมักที่แช่เย็น 0, 1, 3 ชั่วโมง และโกโก้ที่หมักแบบธรรมชาติมีปริมาณกรดไมระเหย 0.532, 0.642, 0.603 และ 0.425 % ตามลำดับ ซึ่งมี

ปริมาณเพิ่มขึ้นจากวันที่ 4 ของการหมัก Passons *et al.* (1984) ได้อธิบายว่า การเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดไมระเหยในช่วงสุดท้ายของการหมักเกิดขึ้น โดยการเจริญของแบคทีเรียแลคติกได้สร้างกรดอินทรีย์บางชนิดสะสมในเมล็ดโกโก้โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้จะใช้สารอาหารที่เหลือในเมล็ดและเยื่อหุ้มเมล็ดในการเจริญ สำหรับการหมักโกโก้ที่แช่เย็น 6 ชั่วโมง มีปริมาณกรดไมระเหยต่ำ เนื่องจากเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์เป็นเวลานานกว่า ทำให้สภาพเป็น permeable membrane มากกว่า จากสภาพ

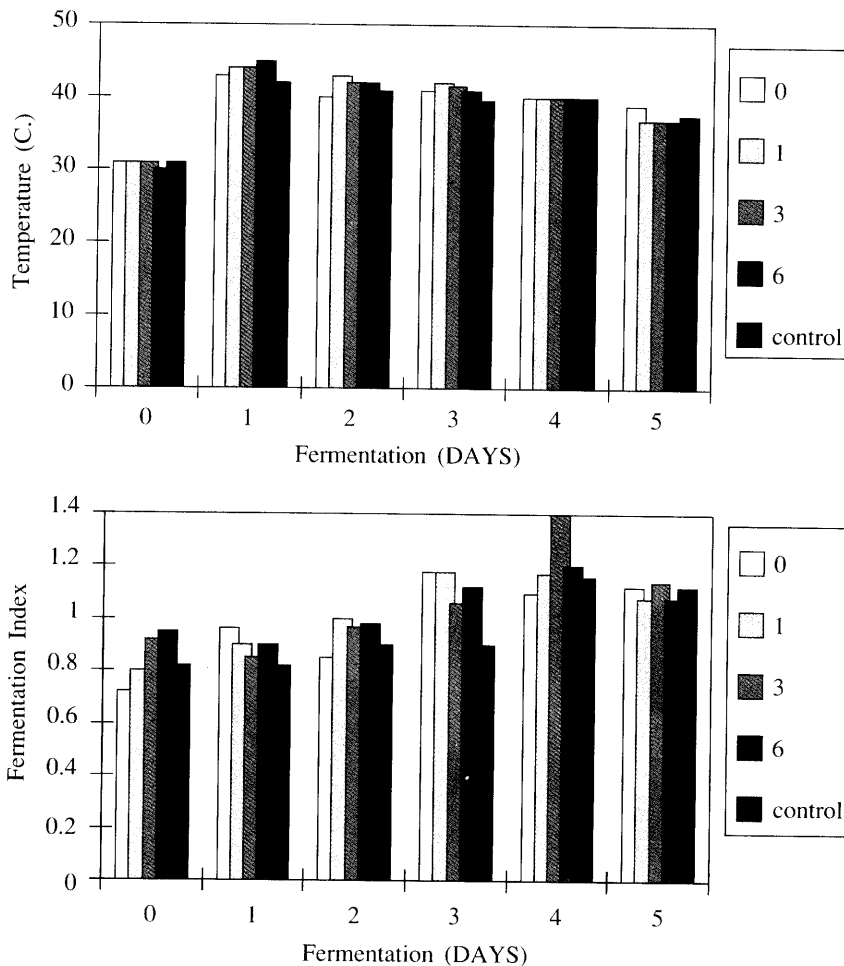


Figure 1 Fermentation Index and temperature during fermentation of pectinase enzyme treated.

นี้ทำให้กรดอินทรีย์ในเมล็ดโกโก้มีโอกาสถูกออกซิไดซ์มากขึ้น (Chong *et al*, 1978) นอกจากนี้สภาพกองหมักที่มีอากาศเนื่องจากการกลับกองยังไม่เหมาะสมกับการเจริญของแบคทีเรียแลคติก จึงทำให้ปริมาณกรดไม่ระเหยมีค่าต่ำ

4. ความเป็นกรด-ด่าง

สำหรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของเมล็ดโกโก้พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงสอดคล้องกับปริมาณกรด

ระเหย โดยมีค่าลดลงใน 3 วันแรกของการหมัก และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันสุดท้ายของการหมักอย่างไรก็ตามเมื่อสิ้นสุดการหมักพบว่า เมล็ดโกโก้ที่ได้จากการหมักเมล็ดโกโก้ที่แช่เอนไซม์ 0, 1, 3, 6 ชั่วโมง และเมล็ดโกโก้หมักแบบธรรมชาติ มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.77, 5.41, 5.49, 5.92 และ 5.88 ตามลำดับ ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่าง ของเมล็ดโกโก้ที่ได้จากการแช่เอนไซม์ 6 ชั่วโมงก่อนหมัก มีค่าสูงกว่าของเมล็ดโกโก้จากกองหมักอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากการ

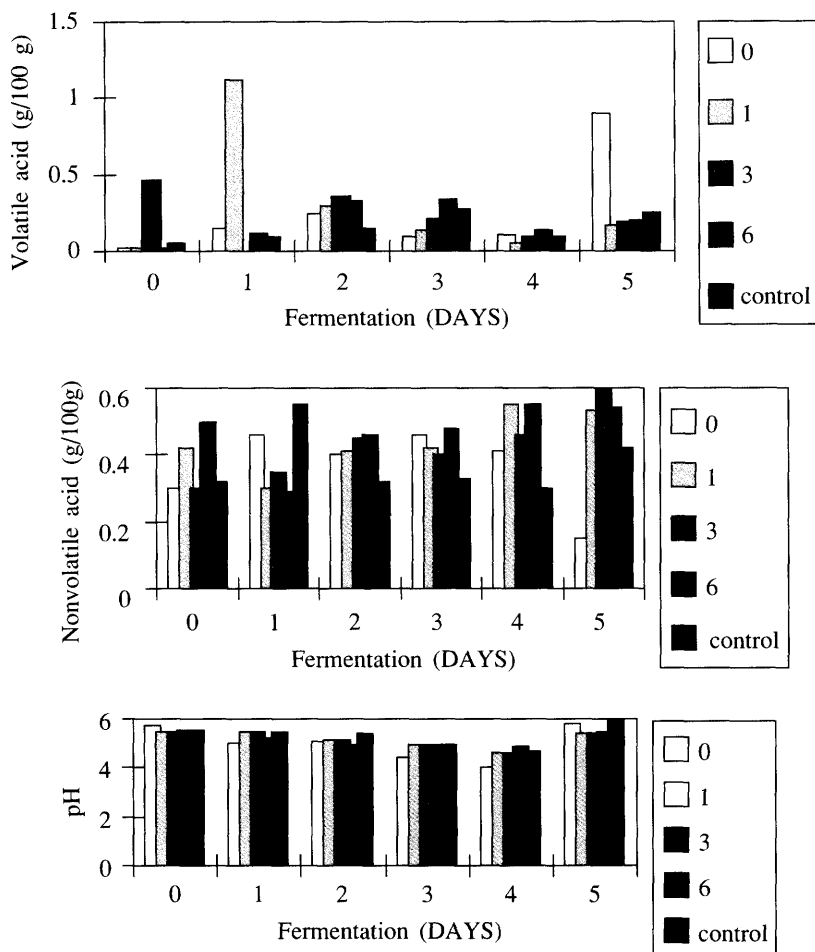


Figure 2 Variation of volatile acid, non-volatile acid and pH during cocoa fermentation of pectinase enzyme treated cocoa for 0, 1, 3, 6 hour and natural fermentation.

ลดลงของปริมาณกรดระเหย อย่างไรก็ตามค่าความเป็นกรด-ด่างของเมล็ดโกโก้หมักที่แช่เอนไซม์ 6 ชั่วโมงก่อนหมัก มีค่าความเป็นกรด-ด่างของเมล็ดโกโก้หมัก เป็นที่ยอมรับในการซื้อขาย (Biehl *et al.*, 1990)

จากผลการศึกษาครั้งนี้ สรุปได้ว่า เอนไซม์เพคตินาส มีผลทำให้ระยะเวลาการหมักโกโก้เร็วขึ้น และคุณภาพเมล็ดโกโก้หมักสมบูรณ์อยู่ในระดับ 79-86% ซึ่งจัดอยู่ในมาตรฐานสากลเกรด 1 (60-80%) ตาม Wood and Lass (1985) ดังนั้น ในการศึกษาเกี่ยวกับการใช้กลั่นเชื้อหมักโกโก้ต่อไปจึงควรให้ความสนใจต่อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เพคตินาสเช่นเดียวกับยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์และอะซิติกแบคทีเรีย (อรพิน และคณะ, 2539)

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณการสนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้ต่อสภาวิจัยแห่งชาติ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มา ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

- อรพิน ภูมิภมร และ จันทนา จินดา. 2539. การหมักโกโก้ I: การจำแนกและศึกษาเมตาบอไลต์ของจุลินทรีย์จากการหมักโกโก้ธรรมชาติ. ว. เกษตรศาสตร์ (วืทย). 30:64-73
- A.O.A.C. 1984. Official Method of Analysis of the Association of Analytical Chemists. 14th ed. Association of Official Analytical Chemist. Arlington, Virginia. 1141 p.
- Biehl, B.B. Meyer, M.B. Said, and R.J. Samarakoddy. 1990. Bean spearding: a method for pulp reconditioning to impairing strong in acidification during cocoa fermentation in Malaysia. J. Sci. Food Agric. 51:35-45.
- Chong, C.F. R. Shepherd, and Y.C. Poon. 1978. Mitigation of cocoa bean acidity-fermentary investigations, pp. 387-414. In Proc. Int. Conf. on Cocoa and Coconut, Kuala Lumpur.
- Gourieve, K.B. and O.B. Tservevitinov. 1979. Method of evaluation the degree of fermentation of cocoa bean. State committee on Invention and Discoveries. USSR. VDC. 603.13.
- Hakin, L.M.Z. and D.C. Sands. 1971. Improve solid medium for detection and enumeration of pectinolytic bacteria. Appl. Microbiol. 22:205-209.
- Jinap, S. and P.S. Dimick. 1990. Acidic characteristics of fermentation and fried cocoa bean from different countries of origin. J. Food Sci. 55:547-550.
- Passon, F.M.L., D.O. Silva, A.S. Lopes, C.L.L.F. Fercira, and W.V. Guinaraed. 1984. Characterization and distribution of lactic acid bacteria from traditional cocoa bean fermentation in Bahia. J. Food Sci. 49:205-208.
- Quesnel, V.C. 1956. Agents inducing the death of cocoa seeds during fermentation. J. Sci. Food Agric. 16:341
- Wood, G.A.R. and R.A. Lass. 1985. Cocoa. 4 th ed. Tropical Agriculture Series. Longman, New York. 342 p.

การใช้ประโยชน์จากการผุกร่อนในการเปลี่ยนสภาพหินดินดาน เพื่อเป็นวัสดุที่เหมาะสมในการก่อสร้างแกนเขื่อนดิน

Application of Weathering Process Phenomena Modify Decomposed Shale to be Used as Core-Zone Material in an Earth Filled Dam

ศุภกิจ วงศ์แก้ว¹

Suphakit Wongkaew

ABSTRACT

Most of the reservoirs in Thailand, in the form of earth filled dam construction, have been constructed by using soil materials which investigating in the reservoir and the adjacent area. In some projects, the result of investigated volume of soil showed the insufficiency of soil. By this event, The Klong Tron irrigation reservoir project in Uttaradit Province, north of Thailand, has faced to it. During the investigation we found most of moderately to highly decomposed shale appearing at the toe of mild mountainside in the reservoir rim. After we dig it up and curing to the period of 24 days, it was altered to clayey soil and given their basic engineering properties such as liquid limit and plasticity index equal to 40-56% and 18-29 respectively ; maximum dry density 1.89-2.01 ton/cu.m corresponding to optimum moisture content 17-22% and coefficient of permeability 10^{-5} to 10^{-7} cm/sec.

Key words: weathering process, decomposed shale, Core-Zone Material, Earth Filled Dam

บทคัดย่อ

การก่อสร้างโครงการชลประทาน ประเภท
อ่างเก็บน้ำ ที่มีขนาดใหญ่ ขนาดกลาง และขนาดเล็ก
โดยเฉพาะการก่อสร้างเขื่อนดิน ทำนบดิน คันดิน คันทาง

และอาคารประกอบต่างๆ ที่ใช้ต้องใช้วัสดุหินในการ
ดำเนินงานในปัจจุบันพบว่าบางโครงการประสบ
ปัญหาวัสดุหินมีไม่เพียงพอ และการที่จะต้องนำวัสดุ
ดินมาจากแหล่งอื่น ซึ่งห่างไกลออกไป ก็มักจะพบว่า
มีปัญหาอยู่หลายประการ ดังนั้นการประยุกต์หลักการ

¹ ฝ่ายสำรวจปฐพีกลศาสตร์ กองวิชาการธรณี กรมชลประทาน

Soil Mechanics Investigation Branch, Geotechnical Division, Royal Irrigation Department, Samsen, Dusit, Bangkok 10300, Thailand.