

การหมักโกโก้ III: การปรับปรุงการหมักโกโก้โดยเสริมการหมัก ด้วยกล้ำเชื้อผสมในระดับห้องปฏิบัติการและเกษตรกร

Cocoa Fermentation III: Improvement of Cocoa Fermentation by Inoculated with Selected Mixed Culture in Laboratory and Farm Trial

อรพิน ภูมิภมร¹ จันทนา จินดา¹ บุญให้ เหลมเพชร² และ ปิยนุช นาคะ²
Orapin Bhumibhamon, Jantana Jinda, Bonhai Laepet, and Piyanut Naka

ABSTRACT

In studied improvement of cocoa fermentation by inoculated with selected culture in laboratory-scale the microorganisms used were 3 strains of alcohol-producing yeasts, pectinase-producing yeast and bacteria, and 6 strains of acetic acid bacteria. After cocoa fermentation in 5 kg batches of each strains, the strains which showed better results in fully fermented (4/4F) cocoa by cut-test method were *Saccharomyces cerevisiae* (KU-Y77), *Saccharomyces chevalieri* (KU-Y150) and *Acetobacter aceti* (KU-A72). The optimum ratio of these strains in 20 kg cocoa batches were 1.5:1.0:1.0 (% weight) which given fully fermented cocoa in 81.7-83.5 % where as 43.7-61.0 % were found in natural fermentation batches.

Four farm-trials cocoa fermentation experiment with ionoculated mix-culture were carried on 4 and 6 days. The results showed fully fermented cocoa in 79-84 % which was indicated as cocoa FAO grade 1 standard. In the same time, the cocoa fermentation period was able to reduce from 6 days to 4 days. Anyhow, the utilization of inoculum in small scale (20-40 kg) showed promising. However, the quality of mix-culture fermented cocoa should be further investigated by sensory evaluation method.

Key words: cocoa fermentation, mixed culture, farm trials

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

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

² ศูนย์วิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Horticultural Research Center, The Ministry of Agriculture and Cooperatives.

บทคัดย่อ

การศึกษาปรับปรุงการหมักโกโก้ในห้องปฏิบัติการได้ใช้จุลินทรีย์ยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์ 3 สายพันธุ์ ยีสต์และแบคทีเรียผลิตเอนไซม์เพคตินเอส และยังมีอะซิติกแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ จากการประเมินประสิทธิภาพการหมักโกโก้ 5 กิโลกรัมของจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์ด้วยผลการทดสอบของเมล็ดโกโก้หมักสมบูรณ์ (4/4F) โดยวิธี cut test พบสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่หมักโกโก้ได้ดีกว่าการหมักแบบธรรมชาติ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* (KU-Y77), *Saccharomyces chevalieri* (KU-Y150) และ *Acetobacter aceti* (KU-A72) และอัตราส่วนของกล้าเชื้อที่เหมาะสมที่หมักเมล็ดโกโก้ 20 กิโลกรัม พบว่าใช้ KU-Y77:KU-Y150:KU-A72 เท่ากับ 1.5:1.0:1.0 (%โดยน้ำหนัก) ใช้กล้าเชื้อผสมในอัตราส่วนดังกล่าว มีเมล็ดโกโก้หมักสมบูรณ์ 81.7-83.5 % ในขณะที่หมักแบบธรรมชาติมีค่าเท่ากับ 43.7-61.0 %

เมื่อนำกล้าเชื้อผสมไปทดสอบหมักเมล็ดโกโก้ 40 กิโลกรัม/ถังโดยเกษตรกร 4 แห่ง โดยทำการหมัก 4 วันและ 6 วัน พบว่ามีค่าเมล็ดโกโก้หมักสมบูรณ์ 79-84 % ซึ่งจัดอยู่ในมาตรฐานสากลเกรด 1 และยังคงระยะการหมักจาก 6 วันเป็น 4 วันได้อีกด้วย แต่การใช้กล้าเชื้อผสมจะเหมาะสมกับเกษตรกรที่มีปริมาณโกโก้ที่ใช้หมักเป็นจำนวนน้อยในแต่ละครั้งของการหมัก อย่างไรก็ตามการประเมินคุณภาพโกโก้หมักด้วยกล้าเชื้อผสมด้วยวิธีประสาทสัมผัสจะได้มีรายงานต่อไป

คำนำ

การปลูกโกโก้ในประเทศไทยนั้น ส่วนใหญ่จะปลูกอยู่ในแถบจังหวัดภาคใต้และบริเวณชายฝั่งทะเลด้านตะวันออกของอ่าวไทย การปลูกโกโก้จะปลูกเป็นพืชแซมในสวนมะพร้าว โดยมีมะพร้าวเป็นร่มเงา รายได้

จากการปลูกโกโก้จึงเป็นรายได้เสริมของเจ้าของสวนมะพร้าว เกษตรกรจะขายผลโกโก้เองก็ได้ แต่การหมักก่อนขายจะทำให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้น นับเป็นการส่งเสริมและพัฒนากาเกษตรแบบยั่งยืน

อย่างไรก็ตาม คุณภาพการหมักโกโก้แบบธรรมชาติของเกษตรกรในปัจจุบันยังไม่เป็นที่น่าพอใจเมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานโกโก้สากล มีผลต่อราคาขายลดลง ซึ่งคุณภาพหมักที่ดีนั้นมาจากหลายปัจจัย ตั้งแต่พันธุ์โกโก้ กรรมวิธีการหมักและการตากแห้ง สำหรับสายพันธุ์โกโก้และการตากแห้ง ได้มีผู้ทำการศึกษาบ้างแล้ว ส่วนกรรมวิธีการหมักโกโก้ในเมืองไทยยังไม่มีข้อมูลมากนักในช่วงหลายปีที่ผ่านมา ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้ศึกษาทำการวิจัยเพื่อทราบถึงกลไกการหมักที่มีต่อคุณภาพทั้งการเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ ฟิสิกส์ เคมี ในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ โดยศึกษาจากลักษณะที่เกษตรกรไทยใช้หมัก คือใช้โกโก้หมักจำนวนไม่มาก (อรพินและคณะ, 2536) นอกจากนี้ยังได้ศึกษาชนิดจุลินทรีย์ในกองหมักโกโก้พร้อมกับศึกษาเมตาบอไลต์ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆที่มีผลต่อการหมักโกโก้และได้จำแนกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพจากการหมักโกโก้ธรรมชาติได้ 11 ไอโซเลท (อรพินและจันทนา, 2539) จุลินทรีย์เหล่านี้ได้แก่ ยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์ (*Saccharomyces cerevisiae*, KU-Y77), *Candida utilis* (KU-Y79), *Candida krusei* (KU-Y125) ยีสต์และแบคทีเรียผลิตเอนไซม์เพคตินเอส คือ *Saccharomyces chevalieri* (KU-Y150) และ *Bacillus* sp. (KU-B190) ตามลำดับ ส่วนอะซิติกแบคทีเรีย คือ *Acetobacter rancens* (KU-A40), *Gluconobacter oxydans* (KU-A45), *Acetobacter aceti* (KU-A72), *Acetobacter pasteurianus* (KU-A101), *Acetobacter mesoxydans* (KU-A132) และ *Acetobacter aceti* (KU-A187)

เนื่องจากปริมาณโกโก้ในเมืองไทยมีไม่มากนัก

ขนาดของกองหมักโกโก้จึงมีขนาดเล็กกว่าการหมักในกลุ่มประเทศอาฟริกาและกลุ่มประเทศอเมริกาใต้ การหมักโกโก้กองใหญ่นั้นส่งผลให้อุณหภูมิในกองหมักสูงขึ้นและปริมาณจุลินทรีย์จะมีมากขึ้นด้วย ทำให้คุณภาพเมล็ดโกโก้หมักดีกว่าการหมักแบบกองขนาดเล็ก เพื่อปรับปรุงคุณภาพเมล็ดโกโก้หมักให้ได้มาตรฐานสากลจึงได้ดำเนินการในเรื่องนี้ โดยมีวัตถุประสงค์ที่จะใช้การเสริมกล้าเชื้อผสมทั้งยีสต์และแบคทีเรียที่แยกได้ในการหมักเมล็ดโกโก้

อุปกรณ์และวิธีการ

ใช้ผลโกโก้พันธุ์ถูกผสมของอัปเปอร์อเมซอน (Upper Amazon) ที่เป็นผลผลิตจากศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร และเกษตรกร อำเภอสวี จังหวัดชุมพร จุลินทรีย์ที่ใช้หมักโกโก้เป็นจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้จากอร์พินและจันทนา (2539) โดยมีทั้งหมด 11 ไอโซเลท คือยีสต์ผลิตเอทิลแอลกอฮอล์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* (KU-Y77), *Candida utilis* (KU-Y79), *Candida krusei* (KU-Y125) ยีสต์และแบคทีเรียผลิตเอนไซม์เพคตินเอส ได้แก่ *Saccharomyces chevalieri* (KU-Y150) และ *Bacillus* sp. (KU-B190) ส่วนอะซิติกแบคทีเรีย ได้แก่ *Acetobacter rancenus* (KU-A40), *Gluconobacter oxydans* (KU-A45), *Acetobacter aceti* (KU-A72, KU-A187), *Acetobacter pasteurianus* (KU-A101) และ *Acetobacter mesoxydans* (KU-A132)

การเตรียมกล้าเชื้อ

ทำการเลี้ยงยีสต์แต่ละไอโซเลทในอาหารเหลว yeast extract-malt extract broth (YM) และเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว nutrient broth (NB) โดยเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วปรับเซลล์ให้มีความเข้มข้น 1×10^9 cfu สำหรับปริมาณกล้าเชื้อทั้งที่เป็นยีสต์และแบคทีเรีย ในขั้นตอนของการศึกษาคัดเลือกนี้จะ

ใช้ในปริมาณเท่ากับที่พบในกองหมักเมล็ดโกโก้ธรรมชาติที่ 24 ชั่วโมง และใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการหมักเมล็ดโกโก้ต่อไป

การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการหมักเมล็ดโกโก้

1. การคัดเลือกยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์

ในการทดลองจะใช้ยีสต์ 3 สายพันธุ์ (KU-Y77, KU-Y79, KU-Y125) ทั้งหมด 4 การทดลอง โดยมีส่วนประกอบของยีสต์และเมล็ดโกโก้ ดังนี้

Batch 1: เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม **2:** เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม + KU-Y77 **3:** เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม + KU-Y79 และ **4:** เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม + KU-Y125

2. การคัดเลือกอะซิติกแบคทีเรีย

ในการทดลองจะใช้ยีสต์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 1 (KU-Y77) และอะซิติกแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ โดยทำการทดลองหมักเมล็ดโกโก้ทั้งหมด 8 การทดลอง ดังนี้

Batch 1: เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม, **2:** เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม + KU-Y77, **3:** เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม + KU-Y77 + KU-A40, **4:** เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม + KU-Y77 + KU-A45, **5:** เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม + KU-Y77 + KU-A72, **6:** เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม + KU-Y77 + KU-A101, **7:** เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม + KU-Y77 + KU-A132, และ **8:** เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม + KU-Y77 + KU-A187

3. คัดเลือกจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เพคตินเอส

ได้ใช้ยีสต์และแบคทีเรียที่คัดเลือกได้จากข้อ 1 และ 2 (KU-Y77 และ KU-A72) ผสมกับ ยีสต์ผลิตเอนไซม์เพคตินเอส KU-Y150 และ แบคทีเรียผลิตเอนไซม์เพคตินเอส KU-B190 โดยทำการหมักทั้งหมด 4 การทดลอง ดังนี้

Batch 1: เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม, **2:** เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม + KU-Y77 + KU-A72, **3:** เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม + KU-Y77 + KU-A72 + KU-Y150, และ **4:** เมล็ดโกโก้ 5 กิโลกรัม + KU-Y77 + KU-A72 + KU-B190

4. การหมักเมล็ดโกโก้

ในการศึกษาคัดเลือกจุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการหมักเมล็ดโกโก้ ในแต่ละการทดลองจะทำ 3 ซ้ำ นำถุงเมล็ดโกโก้ที่มีส่วนผสมของจุลินทรีย์ใส่ลงไปลงในถัง batch ละถัง แล้วคลุมถุงเมล็ดโกโก้ด้วยกระสอบป่าน 2-3 ชั้น ในระหว่างการหมักจะทำการกลับเมล็ดโกโก้โดยการถ่วงวันละครั้งใน 2 วันแรกของหมัก การหมักจะสิ้นสุดลงเมื่ออุณหภูมิในถุงลดลงอยู่ระหว่าง 30-35° ซ. นำเมล็ดที่ผ่านการหมักแล้วมาวิเคราะห์หาความสมบูรณ์ของการหมักด้วยวิธี Cut Test ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้ F-Test

ศึกษาปริมาณความเหมาะสมของจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นกล้าเชื้อหมักเมล็ดโกโก้

1. ศึกษาปริมาณอะซิติกแบคทีเรีย

แบ่งเมล็ดโกโก้บรรจุลงไปในถังไม้ ด้วยปริมาณถังละ 20 กิโลกรัม จำนวน 3 ชุดละ 5 ถัง ในแต่ละชุดจะใส่กล้าเชื้อผลิตแอลกอฮอล์ (KU-Y77) และกล้าเชื้อผลิตเอนไซม์เพคตินเอส (KU-Y150) ในปริมาณอย่างละ 1 % ในแต่ละถัง จะใส่กล้าเชื้ออะซิติกแบคทีเรียในปริมาณแตกต่างกัน คือ 0.5 , 1.0, 1.5 และ 2.0 % ตามลำดับ ส่วนถังที่ 5 จะเป็นการหมักแบบธรรมชาติโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ ส่วนผสมทั้งหมดจะคลุกเคล้าด้วยกันในถังไม้ แล้วคลุมด้วยกระสอบป่าน 2-3 ชั้น ทำการหมักเป็นระยะเวลา 4 วัน

ในสองวันแรกจะมีการกลับกองเมล็ดโกโก้วันละครั้ง เมื่อสิ้นสุดของการหมัก ทำการประเมินปริมาณอะซิติกแบคทีเรียที่มีผลต่อเมล็ดโกโก้

หมักสมบูรณ์ที่สุดด้วยวิธี Cut Test พร้อมวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ F-Test

2. ศึกษาปริมาณยีสต์ผลิตเอนไซม์เพคตินเอส

ในการหมักเมล็ดโกโก้มีวิธีการทำเช่นเดียวกับที่ได้อธิบายในข้อ 3.1 แต่ใส่ยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์ KU-Y77 และอะซิติกแบคทีเรีย KU-A72 ในปริมาณชนิดละ 1.0% ส่วนปริมาณยีสต์ผลิตเอนไซม์เพคตินเอส คือ KU-Y150 จะใส่ในปริมาณแตกต่างกัน คือ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2% เมื่อสิ้นสุดการหมัก 4 วัน ทำการประเมินปริมาณยีสต์ผลิตเอนไซม์เพคตินเอส (KU-Y150) ที่มีผลต่อเมล็ดโกโก้หมักสมบูรณ์ที่สุดด้วยวิธี Cut Test พร้อมวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ

3. ศึกษาปริมาณยีสต์ที่ผลิตแอลกอฮอล์

ในการหมักเมล็ดโกโก้มีวิธีการทำเช่นเดียวกับที่ได้อธิบายในข้อ 1 แต่ใส่กล้าเชื้อ KU-Y150 และ KU-A72 แต่ละชนิดในปริมาณ 1.0 % (จากการทดลองข้อ 1 และ 2) ส่วนปริมาณยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์ KU-Y77 จะใส่ในปริมาณแตกต่างกันคือ 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0 % เมื่อสิ้นสุดเวลาของการหมัก 4 วัน จึงทำการประเมินปริมาณยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์ที่มีผลต่อเมล็ดโกโก้หมักสมบูรณ์ที่สุดด้วยวิธี Cut Test พร้อมวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ

การหมักเมล็ดโกโก้ด้วยกล้าเชื้อผสมในเกษตรกร

เกษตรกรที่ให้ความร่วมมือในการศึกษาหมักเมล็ดโกโก้ครั้งนี้รวม 4 แห่ง ได้แก่ ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร บริษัทวิทยุเกษตร จำกัด (สุราษฎร์ธานี) สวนคุณทองอยู่ ปันแจ่งอรุณ (สุราษฎร์ธานี) และสวนคุณจิต ชุมสุข (สุราษฎร์ธานี)

ในการหมักเมล็ดโกโก้ของเกษตรกรแต่ละท้องถิ่นจะทำการหมักตามวิธีที่ดำเนินเป็นประจำเพียงแต่ใส่กล้าเชื้อผสม (ในอัตราส่วนที่ได้จากการทดลอง) ลงในถังไม้ที่มีเมล็ดโกโก้ 40 กิโลกรัม ทำการทดลอง

3 ชั่วโมงต่อการทดลอง ทำการหมักโกโก้เป็นระยะเวลา 4 วัน และ 6 วัน จากนั้นจึงนำเมล็ดโกโก้หมักไปทำให้แห้งตามความถนัดของแต่ละแหล่ง แล้วนำเมล็ดโกโก้แห้งไปประเมินปริมาณเมล็ดหมักสมบูรณ์ด้วยวิธี Cut Test พร้อมวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ F-Test

การประเมินการหมักเมล็ดโกโก้

ในการประเมินการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ได้อาศัยคุณภาพเมล็ดโกโก้แห้งที่มีจำนวนเมล็ดหมักสมบูรณ์ (fully fermented) ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับในทางการค้าขาย โดยมีมาตรฐานเมล็ดโกโก้เกรด 1 คือ มีปริมาณเมล็ดโกโก้หมักสมบูรณ์ 60-80 % (Wood and Lass, 1985)

การวิเคราะห์

ในระหว่างการศึกษาการหมักเมล็ดโกโก้ของแต่ละการทดลอง นอกจากจะประเมินเมล็ดหมักสมบูรณ์ด้วยวิธี Cut Test แล้ว (Wood and Lass, 1985) ยังมีการวิเคราะห์ดัชนีการหมัก (Fermentation Index) ตามวิธีที่ได้อธิบายโดย Gourieve and Tservevitinove (1979) ส่วนปริมาณกรดระเหยและกรดไม่ระเหยนั้นทำการวิเคราะห์ในรูปของกรดอะซิติกและกรดซิตริก (A.O.A.C., 1992) นอกจากนี้ยังมีการวิเคราะห์หา pH, อุณหภูมิ และการเปลี่ยนแปลงปริมาณของจุลินทรีย์ในระหว่างการหมัก

ในการทดลองหมักเมล็ดโกโก้ของแต่ละการทดลองได้วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ

ผลและวิจารณ์

ชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ในการหมักโกโก้ธรรมชาติ

ในการใส่กล้าเชื้อลงในถังหมักโกโก้ตามธรรมชาตินั้น จำเป็นที่จะต้องใส่ในปริมาณที่สูงขึ้น

เพื่อให้จุลินทรีย์ที่ใส่ลงไปเจริญได้เร็วกว่าจุลินทรีย์ที่ปะปนในธรรมชาติ ดังนั้นจึงได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งยีสต์ แบคทีเรีย อะซิติกแบคทีเรีย และแลคติกแบคทีเรีย ทั้งชนิดที่เจริญในอุณหภูมิสูง (thermophile) และเจริญในอุณหภูมิปานกลาง (mesophile) (Figure 1) สำหรับปริมาณเชื้อยีสต์และแบคทีเรียที่ใส่ในการศึกษาเพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการหมักในหัวข้อต่อไปจึงได้อาศัยปริมาณเชื้อที่พบในธรรมชาติที่ 24 ชั่วโมงเป็นแนวทางศึกษาเบื้องต้น

การศึกษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ต่อความเหมาะสมที่จะใช้เป็นกล้าเชื้อหมักโกโก้

1. การศึกษาประสิทธิภาพของสายพันธุ์ต่อการหมักโกโก้

จากการศึกษาหมักโกโก้จำนวน 5 กิโลกรัมด้วยยีสต์สายพันธุ์ KU-Y77, KU-Y79, และ KU-Y125 เป็นระยะเวลา 4 วัน แล้วตากแห้งจากนั้นสุ่มเมล็ดโกโก้แห้งมาวิเคราะห์ปริมาณเมล็ดโกโก้หมักสมบูรณ์ (full fermentation) พบว่าการใช้ยีสต์ KU-Y77 มีผลให้เมล็ดโกโก้หมักสมบูรณ์สูงกว่าอีกสองสายพันธุ์คือ 53.3 % มีค่าดัชนีการหมัก 1.3 ซึ่งค่าเหล่านี้พบว่าสูงกว่าการหมักแบบธรรมชาติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับค่าดัชนีการหมักได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมัก แสดงให้เห็นว่าเมล็ดโกโก้หมักมีสีน้ำตาลเพิ่มขึ้น ซึ่งปกติดัชนีการหมักมีค่าสูงกว่า 1.0 แสดงว่าการหมักสิ้นสุดลง (Wood and Lass, 1985) นอกจากนี้อุณหภูมิการหมักจะลดลงเมื่อสิ้นสุดการหมัก ดังนั้นถ้ายังไม่ได้ทำ Cut Test เพื่อดูความสมบูรณ์ของการหมักแล้ว ค่าบ่งชี้ขบวนการหมักสิ้นสุดลง จะดูคร่าวๆได้จากค่าดัชนีการหมักและอุณหภูมิที่ลดลง ค่ากรดระเหยและกรดไม่ระเหยจะเพิ่มขึ้นในระหว่างการหมักและจะลดลงเมื่อการหมักสิ้นสุดลง (Figure 2)

กรดระเหยในเมล็ดโกโก้จากทุกกองหมักมี

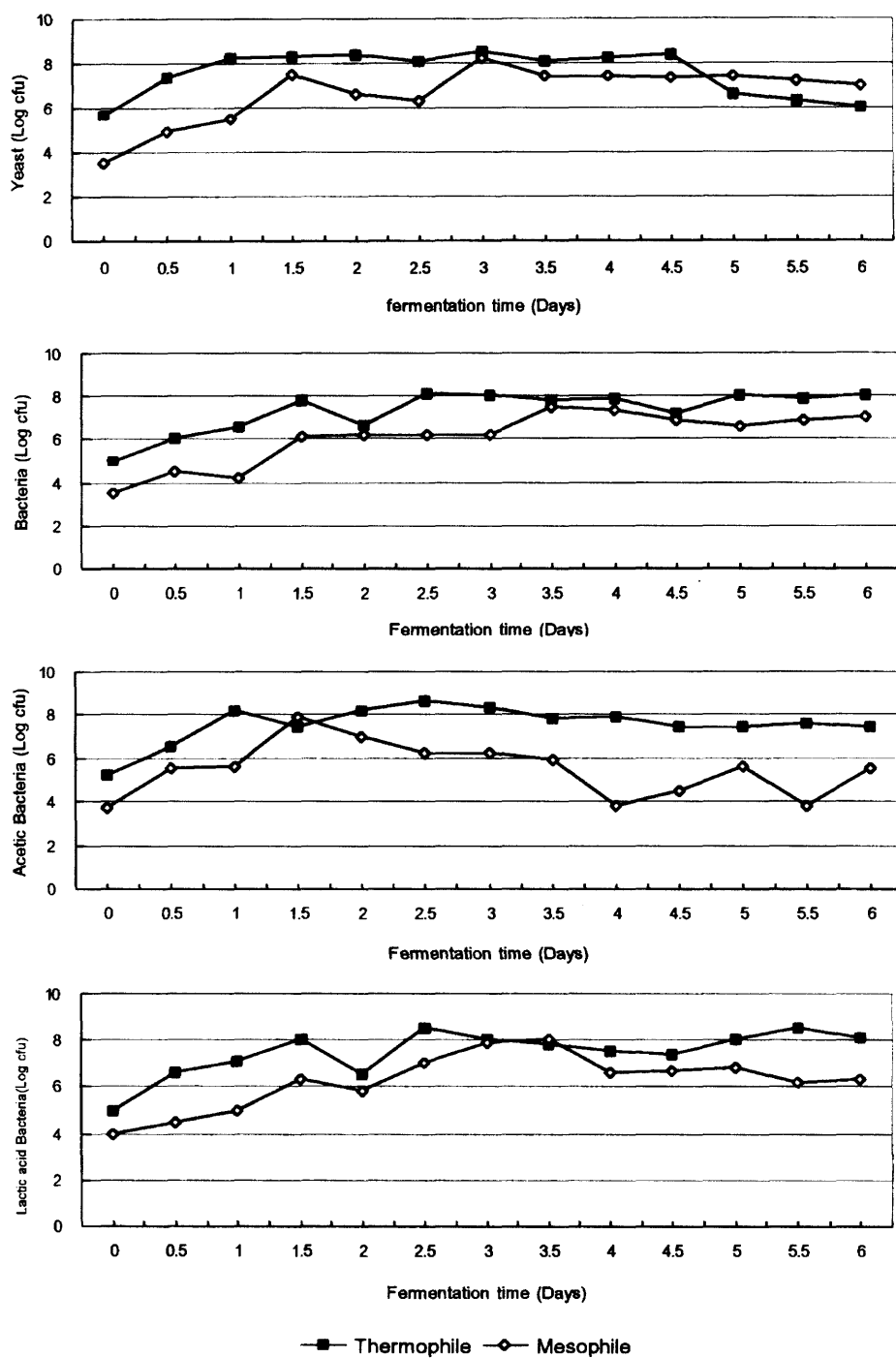


Figure 1 Variation of yeast, total bacteria, acetic acid bacteria and lactic acid bacteria during natural cocoa fermentation.

ปริมาณลดลง เนื่องจากกรดอะซิติกถูกออกซิไดซ์ไปในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำซึ่งจะเกิดขึ้นได้รวดเร็วในสภาพที่มีอากาศสูง (Meyer *et al.*, 1989) และผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาที่หมักโกโก้ด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevesiae* (Samah *et al.*, 1992) อย่างไรก็ตามในระหว่างการหมักค่าความ

เป็นกรด-ด่างจะต่ำลงในทุกกองหมัก เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของกรดอะซิติกมีผลต่อดัชนีการหมัก (Shibani *et al.*, 1981) หลังจากนั้นค่า pH จะเพิ่มขึ้นเมื่อการหมักสิ้นสุดลง

อย่างไรก็ตาม การหมักโกโก้ด้วยยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์ให้ผลเมสคิงโกโก้หมักสมบูรณ์ ในการ

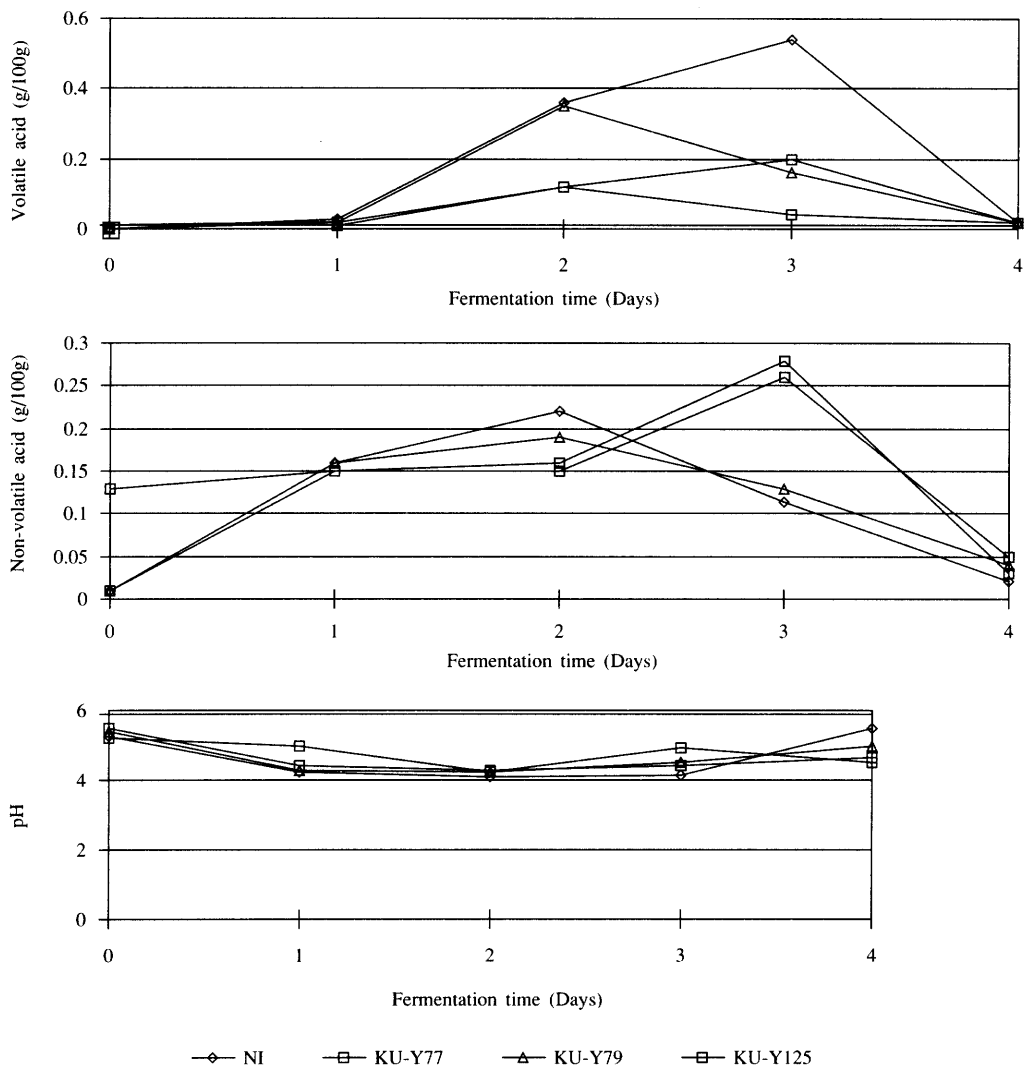


Figure 2 Variation of volatile acid, non-volatile acid and pH during cocoa fermentation with alcohol-producing yeast.

ทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับที่มีรายงานการทดลองด้วย *Saccharomyces cerevisiae* (Samah et al, 1992) และ *Candida spp.* (Shibani et al, 1981) ดังนั้นจากผลการศึกษานี้จึงได้เลือกยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* KU-Y77 ไว้ศึกษาในหัวข้อต่อไป

2. การศึกษาอะซิติกแบคทีเรียต่อการหมักโกโก้

ในการศึกษาหมักเมล็ดโกโก้ด้วยอะซิติกแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ ซึ่งผลิตปริมาณกรดอะซิติกแตกต่างกัน พบว่าการเติมอะซิติกแบคทีเรีย KU-A72 และ KU-A187 ส่วนกับยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์ KU-Y77 จะมีผลต่อเมล็ดโกโก้ หมักสมบูรณ์ได้ 78% และ 76% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าอะซิติกแบคทีเรียอื่นๆ รวมทั้งสูงกว่าการหมักแบบธรรมชาติและที่เติมยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์อย่างเดียว เมล็ดโกโก้หมักที่มีการใส่กล้าเชื้อจะให้เมล็ดหมักสมบูรณ์ 4/4F และ 3/4F สูงกว่าการหมักไม่ใส่กล้าเชื้อ และยังสอดคล้องกับค่าดัชนีการหมักที่มีค่าอยู่ระหว่าง 1-1.6

สำหรับปริมาณกรดไม่ระเหยและกรดระเหยที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักจะมีผลต่อคุณภาพของโกโก้เช่นเดียวกัน กรดระเหยและกรดไม่ระเหยจะเพิ่มขึ้นสูงในวันที่ 2 ของการหมัก และลดลง เมื่อการหมักสิ้นสุดลง (Figure 3) เมื่อการหมักสิ้นสุดการสะสมกรดระเหยในเมล็ดโกโก้ ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลงจนกระทั่งวันที่ 2 ของการหมัก หลังจากนั้นจะมีค่า pH เพิ่มขึ้นเนื่องจากมีสารประกอบแอมโมเนียเกิดขึ้นในช่วงที่อุณหภูมิเริ่มลดลงซึ่งเป็นวันที่ 3 ของการหมัก (Jinap and Dimick, 1991)

อย่างไรก็ตาม การหมักโกโก้ด้วยอะซิติกแบคทีเรีย ร่วมกับยีสต์ KU-Y77 ช่วยให้การหมักเมล็ดโกโก้มีความสมบูรณ์ได้ดีกว่าและค่าความเป็นกรด-ด่างที่ยอมรับของ Meyer et al. (1989) โดยอยู่ระหว่าง 5.0-5.8 และเป็นค่ายอมรับได้ของ Shepherd et al. (1984)

กล่าวคือเมื่อสิ้นสุดของการหมักค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.6 ดังนั้นจึงเลือกอะซิติกแบคทีเรีย KU-A72 และยีสต์ KU-Y77 ไว้ใช้ในการศึกษาหมักโกโก้ต่อไป

3. การศึกษายีสต์และแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เพคตินสต่อการหมักเมล็ดโกโก้

ในการศึกษานี้ได้ใช้ยีสต์ KU-Y150 หรือแบคทีเรีย KU-B190 ร่วมกับยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์ KU-Y77 และอะซิติกแบคทีเรีย KU-A72 ซึ่งผลการทดลองพบว่า ในการทดลองที่เติมยีสต์หรือแบคทีเรียผลิตเอนไซม์เพคตินเนส มีผลให้ค่าเมล็ดโกโก้หมักสมบูรณ์ใกล้เคียงกัน คือ 66 และ 65 % ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการหมักที่ไม่ใส่จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เพคตินเนสและการหมักธรรมชาติ และจากการทดลองครั้งนี้สรุปเบื้องต้นได้ว่า การหมักเมล็ดโกโก้ที่มีการใช้กล้าเชื้อ 3 ชนิด คือ จุลินทรีย์ผลิตแอลกอฮอล์ ผลิตเอนไซม์เพคตินเนส และอะซิติกแบคทีเรียจะมีผลต่อการหมักสมบูรณ์ของเมล็ดดีกว่าการหมักแบบธรรมชาติ นอกจากนี้ยังพบว่ายีสต์ผลิตเอนไซม์เพคตินเนสคือ *Saccharomyces chevalieri* (KU-Y150) มีความเหมาะสมใช้หมักเมล็ดโกโก้มากกว่า KU-B190 เนื่องจากเอนไซม์เพคตินเนสมีความคงทนและทำงานได้ดีที่ pH ก่อนข้างเป็นกรด (อรพิน และจันทนา, 2539) ซึ่งเหมาะกับสภาพการหมักโกโก้ที่มีความเป็นกรดตลอดระยะการหมัก

อย่างไรก็ตามจากการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในระหว่างการหมัก เนื่องจากมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระหว่างการหมัก (Ostavar and Keeney, 1973; Wood and Lass, 1985) พบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณยีสต์ในการหมักที่เติมกล้าเชื้อจุลินทรีย์มีการเปลี่ยนแปลงลดลงเล็กน้อยในวันแรกของการหมัก และมีแนวโน้มลดลง การหมักโดยมีปริมาณเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่าง 1.1×10^8 - 3.0×10^5 cfu แต่จะเห็นว่าอุณหภูมิในกองหมักโกโก้ด้วยยีสต์ KU-Y150

ร่วมกับ KU-Y77 เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในวันแรกของการหมัก และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากวันแรกของการหมักในขณะที่ปริมาณยีสต์ลดลง ทั้งนี้

เนื่องจากภายในกองหมักเมล็ดโกโก้มีปริมาณแบคทีเรียอะซิติก แบคทีเรียแลกติก และจุลินทรีย์ผลิตเอโนไซม์เพคตินเอสซึ่งมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันแรก

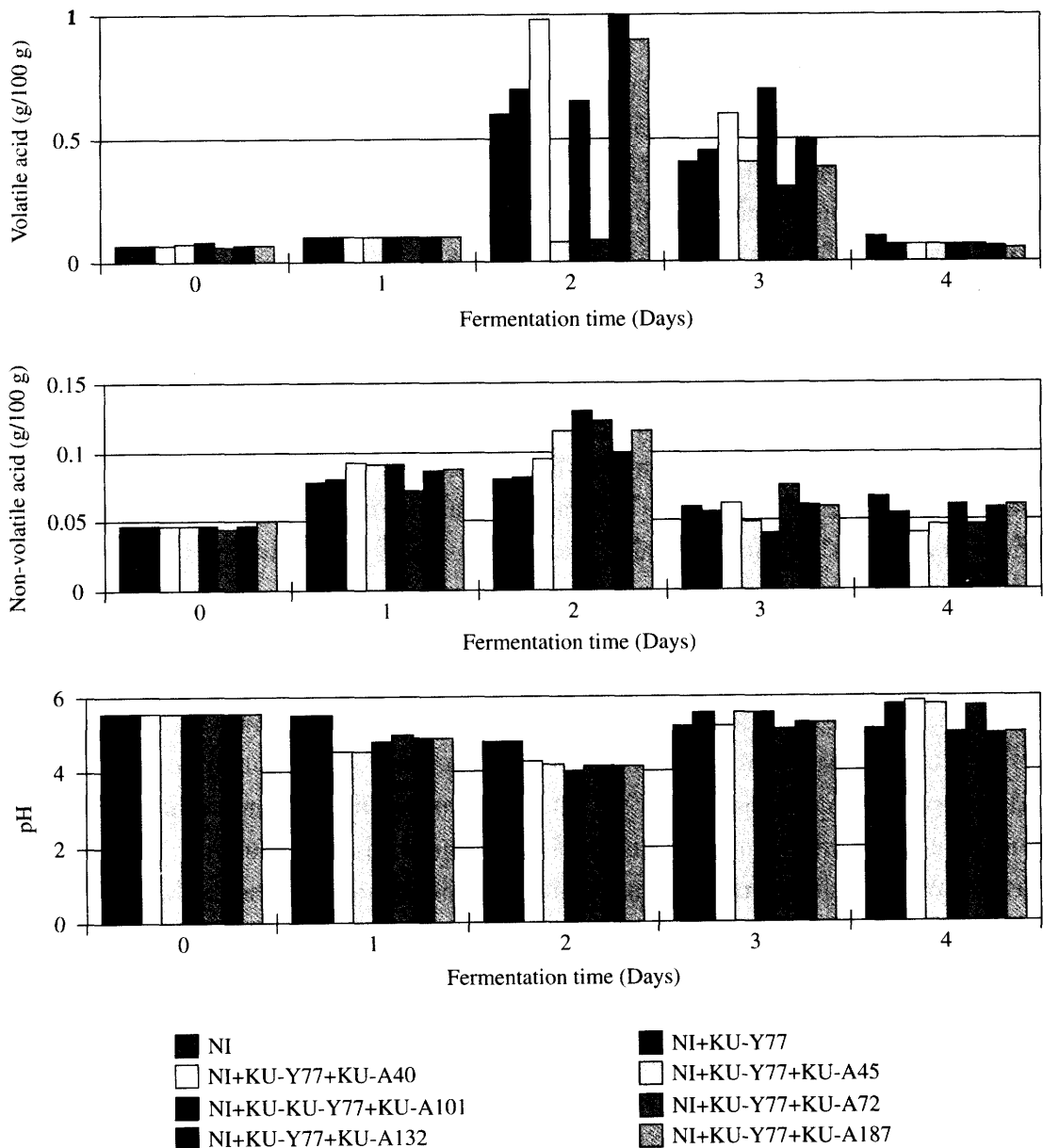


Figure 3 Variation of volatile acid, non-volatile acid and pH during cocoa fermentation with 6 isolated of acetic bacteria and alcohol-producing yeast.

ของการหมัก หลังจากนั้นปริมาณลดลงโดยในระหว่างการหมักพบว่าปริมาณแบคทีเรียอะซิติกเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่าง 4.7×10^8 - 2.5×10^3 cfu แบคทีเรียแลคติกเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่าง 1.9×10^3 - 9.7×10^7 cfu และจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เพคตินเอสเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่าง 1.7×10^5 - 9.5×10^7 cfu ปริมาณจุลินทรีย์ในกองหมักนี้มีปริมาณมากกว่าในกองหมักด้วยแบคทีเรีย KU-B190 ร่วมกับยีสต์ KU-Y77 และอะซิติกแบคทีเรีย KU-A72 แม้ว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งนี้เนื่องจากค่าความเป็นกรด-ด่างในเชื้อหุ้มเมล็ดโกโก้มีค่าที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เพคตินเอส (pH 3.5-5.5) ได้ดีกว่าแบคทีเรียผลิตเอนไซม์เพคตินเอสที่เจริญได้ดีในช่วงความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.0-8.4 (Niimoto and Tanitsu, 1974; Wimbrone and Richard, 1978) และจากการทำงานของเอนไซม์เพคตินเอสที่ผลิตได้จากยีสต์ KU-Y150 จะย่อยเพคตินในเชื้อหุ้มเมล็ดได้น้ำตาลกลูโคสในกองหมักเพิ่มขึ้นถึง 16% ทำให้อะซิติกแบคทีเรียและแบคทีเรียแลคติกมีปริมาณเพิ่มขึ้นด้วย (Shephred *et al.*, 1984)

นอกจากนี้ยังพบว่า แม้ปริมาณจุลินทรีย์ในกองหมักโกโก้ด้วยยีสต์ KU-Y150 ร่วมกับยีสต์ KU-Y77 และ KU-A72 ลดลงหลังจากวันแรกของการหมัก แต่ในกองหมักกลับมีอุณหภูมิสูงขึ้นจนถึงวันที่ 3 ของการหมัก ซึ่งจากการศึกษาของ Lopez (1983) ได้พบว่า การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในกองหมักนอกจากจะเกิดขึ้นเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์แล้ว ยังเกิดขึ้นเนื่องจากการออกซิเดชันของกรดอินทรีย์ต่างๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก ทำให้อุณหภูมิในกองหมักเพิ่มขึ้น ซึ่งจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดระเหย และกรดไม่ระเหยที่สะสมในเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมัก พบว่า กรดทั้งสองมีปริมาณเพิ่มขึ้นในทุกกองหมัก จนกระทั่งวันที่ 3 หลังจากนั้นจึงลดลง โดยกองหมักเมล็ดโกโก้ด้วยยีสต์

KU-Y150 ร่วมกับ KU-Y77 และอะซิติกแบคทีเรีย KU-A72 มีปริมาณกรดระเหยสะสมในเมล็ดสูงสุดในวันที่ 3 ของการหมัก ซึ่งมีปริมาณ 0.4% และปริมาณสูงกว่าเมล็ดโกโก้จากกองหมักอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังจากนั้นจึงลดลง เมื่อสิ้นสุดการหมักจะมีปริมาณกรดระเหยสะสมในเมล็ด 0.1% สำหรับปริมาณกรดไม่ระเหยมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 3 ของการหมักโดยมีปริมาณ 0.9% ซึ่งน้อยกว่าปริมาณกรดไม่ระเหยในเมล็ดที่ได้จากการหมักโกโก้ด้วยแบคทีเรีย KU-B190 ร่วมกับยีสต์ KU-Y77 และ แบคทีเรีย KU-A72 ซึ่งมีปริมาณ 0.35% จะเห็นว่าช่วงเวลาที่ปริมาณกรดอินทรีย์ในเมล็ดมีปริมาณสูง เป็นช่วงเวลาที่ภายในกองหมักมีอุณหภูมิสูงสุด และเป็นช่วงเวลาที่ค่าดัชนีการหมักยังคงมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณกรดอินทรีย์ในเมล็ดโกโก้ โดยเฉพาะกรดระเหยจะทำให้สภาพความเป็นกรด-ด่างในเมล็ดเหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์กลุ่มฟีนอลออกซิเดสซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลและสังเคราะห์สารตั้งต้นกลิ่น-รส (Meyer *et al.*, 1989; Cros *et al.*, 1982) จากการศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างในเมล็ดโกโก้พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างของเมล็ดโกโก้จากการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยยีสต์ KU-Y150 ร่วมกับยีสต์ KU-Y77 และแบคทีเรียอะซิติก KU-A72 จะมีค่าลดลงจนถึงวันที่ 3 ของการหมัก มีค่าเท่ากับ 3.5 ซึ่งเป็นค่าต่ำกว่าการหมักแบบอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หลังจากนั้นจึงมีค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น เมื่อสิ้นสุดการหมักพบว่า มีค่าเท่ากับ 5.5 (Figure 4) ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยยีสต์ KU-Y150 ร่วมกับยีสต์ KU-Y77 และแบคทีเรียอะซิติก (KU-A72) เป็นไปในลักษณะเดียวกันกับค่าความเป็นกรด-ด่างในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ของ Vincent (1981) และ Sanchez *et al.* (1985)

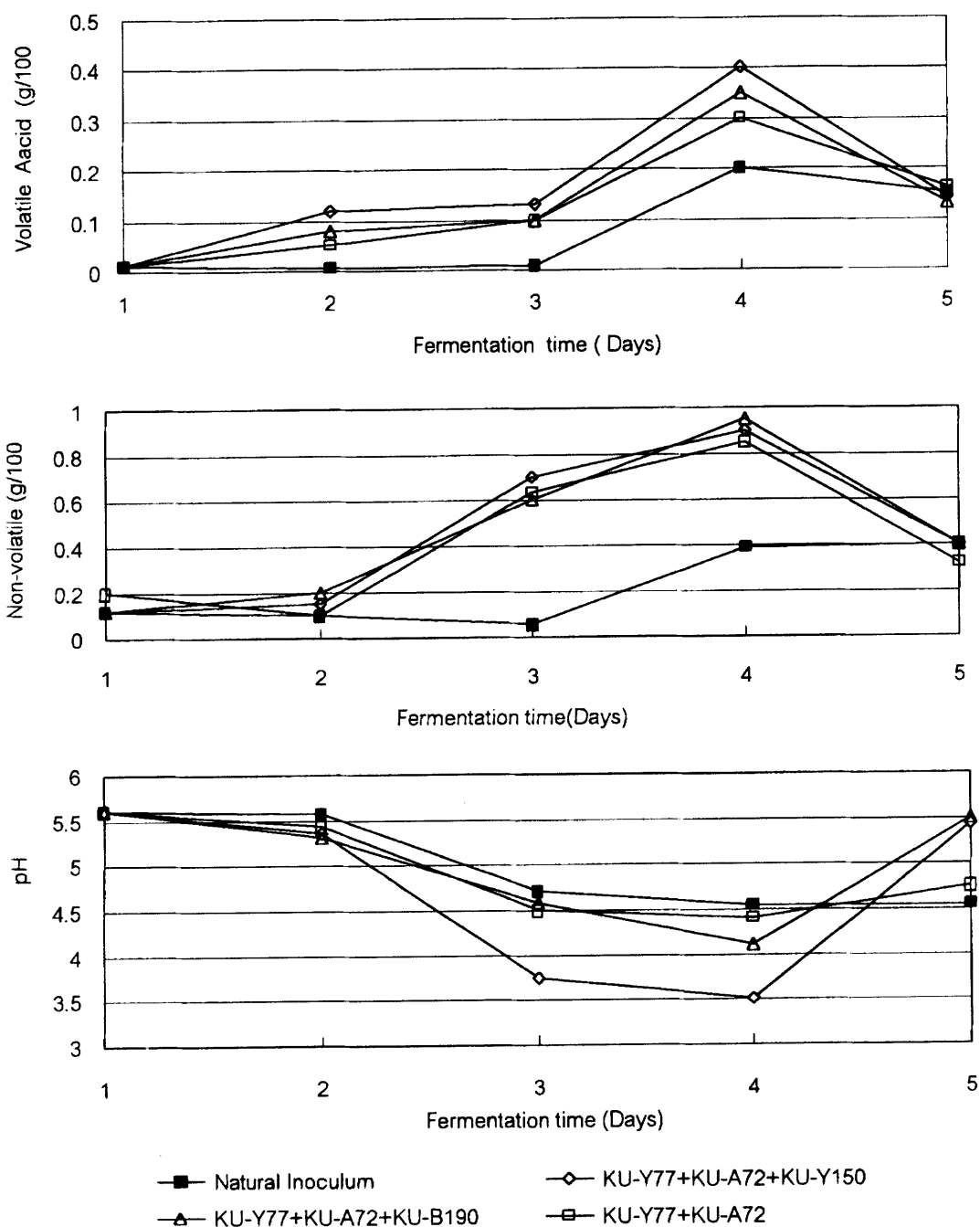


Figure 4 Variation of volatile acid, non-volatile acid and pH during cocoa fermentation with selected pectinase-producing yeast and bacteria.

ศึกษาปริมาณความเหมาะสมของจุลินทรีย์ที่เติมเป็น กล้าเชื้อผสมเมล็ดโกโก้

1. ศึกษาปริมาณอะซิดิกแบคทีเรีย

การศึกษามักเมล็ดโกโก้ด้วยกล้าเชื้อผสมในการหมักแป้งที่มีเมล็ดโกโก้ 20 กิโลกรัม นั้นประกอบด้วยยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์ KU-Y77 ยีสต์ผลิตเอนไซม์เพคตินาส KU-Y150 ในปริมาณชนิดละ 1.0% ส่วนอะซิดิกแบคทีเรียคือ KU-A72 จะใส่ในปริมาณแตกต่างกันในแต่ละถัง คือ 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0% ซึ่งผลการหมักพบว่า การใช้เชื้ออะซิดิกแบคทีเรียในปริมาณ 1.0% มีผลให้เมล็ดโกโก้หมักสมบูรณ์สูง 60.5% และมีการหมักเกิดขึ้นสมบูรณ์กว่าการหมักในปริมาณอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณอะซิดิกแบคทีเรียอัตรา 1.0% ไว้สำหรับศึกษาต่อไป

2. ศึกษาปริมาณยีสต์ผลิตเอนไซม์เพคตินาส

การศึกษามักเมล็ดโกโก้ด้วยกล้าเชื้อผสมในแป้งที่ไม่มีเมล็ดโกโก้ 20 กิโลกรัม นั้นจะประกอบด้วยยีสต์ KU-Y77 และอะซิดิกแบคทีเรีย KU-A72 ในปริมาณชนิดละ 1.0% ส่วนยีสต์ผลิตเอนไซม์เพคตินาส KU-Y150 จะใส่ในปริมาณแตกต่างกันในแต่ละถัง โดยใส่ 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0% ผลจากการหมักพบว่าเมื่อใส่ปริมาณเชื้อ 1.0% สูงสุด คือ 71.0% โดยมีการหมักเกิดขึ้นสมบูรณ์กว่าปริมาณอื่นๆ ที่ใช้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจึง

เลือกใช้ปริมาณยีสต์เอนไซม์เพคตินาสในอัตรา 1.0% ไว้สำหรับศึกษาต่อไป

3. ศึกษาปริมาณยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์

การศึกษามักเมล็ดโกโก้ด้วยกล้าเชื้อในแป้งที่ไม่มีเมล็ดโกโก้ 20 กิโลกรัม นั้นประกอบด้วยยีสต์ผลิตเอนไซม์เพคตินาส KU-Y150 และอะซิดิกแบคทีเรีย KU-A72 ในปริมาณชนิดละ 1.0% ส่วนยีสต์ผลิตแอลกอฮอล์ KU-Y77 จะใส่ในปริมาณแตกต่างกันในแต่ละถังหมักคือใส่ 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0% ผลจากการหมักพบว่าการใช้ยีสต์ KU-Y77 ในปริมาณ 1.5% มีผลให้เกิดเมล็ดโกโก้หมักสมบูรณ์ (4/4F) สูงถึง 81.75% และเมล็ดหมักเกือบสมบูรณ์ (3/4F) 17% และเมล็ดที่เกิดการหมักไม่สมบูรณ์ 1.25% และไม่พบว่า มีเมล็ดที่เป็นหินขุ่นและเป็นเชื้อรา ซึ่งเมื่อจัดคุณภาพเมล็ดโกโก้ที่ได้ตามมาตรฐานที่ใช้ในปัจจุบันและที่กำหนดไว้ (Wood and Lass, 1985) จากการศึกษายังพบว่าคุณภาพเมล็ดโกโก้หมักจัดอยู่ในมาตรฐานเกรด 1 ส่วนเมล็ดที่เกิดการหมักไม่สมบูรณ์ที่พบ 1.25% นั้นก็ยังถือว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานสากล อย่างไรก็ตาม ได้มีการหมักโกโก้ซึ่งอีกครั้งในอัตราส่วนของกล้าเชื้อผสม KU-Y77: KU-Y150: KU-A72 คือ 1.5:1:1 ซึ่งให้ผลการหมักเช่นเดียวกันคือมีเมล็ดหมักสมบูรณ์ 82.0-83.5 % (Table 1)

สำหรับเมล็ดโกโก้ที่หมักแบบธรรมชาติที่ไม่ได้รับการเติมกล้าเชื้อผสมทั้ง 3 ชนิดพบว่ามีความ

Table 1 Quality of cocoa fermentation with selected inoculum for 4 days which evaluated by cut test.

Cocoa fermentation		Percentage of fully fermentation .				
		4/4F	3/4F	2/4F-1/4F	Slaty	Mold
Control		61.0 ^a	37.5 ^a	1.5	-	-
Inoculated fermentation	(Rep.1)	82.0 ^b	18.0 ^b	-	-	-
	(Rep.2)	83.5 ^b	16.5 ^b	-	-	-

Characters carrying different superscripts in the same column differ significantly ($P < 0.05$) from each other.

ต่ำกว่ามาตรฐานสากลทั้งในด้านปริมาณเมล็ดหมักสมบูรณ์และไม่สมบูรณ์

การหมักโกโก้ที่มีปริมาณโกโก้ขนาด 20 กิโลกรัม นั้น การใช้กล้าเชื้อผสมที่คัดเลือกได้ให้คุณภาพเมล็ดหมักสมบูรณ์ที่ดีกว่า ดังนั้นจึงเห็นสมควรที่จะทดลองในระดับเกษตรกรต่อไป

การหมักโกโก้ด้วยกล้าเชื้อผสมในเกษตรกร

ในการทดลองใช้กล้าเชื้อผสมทดลองหมักเมล็ดโกโก้โดยคัดเลือกเกษตรกรจำนวน 4 กลุ่มในจังหวัดชุมพรและสุราษฎร์ธานี โดยหมักในถังไม้ที่มีเมล็ดโกโก้ 40 กิโลกรัม และใช้กล้าเชื้อ KU-Y77, KU-Y150 และ KU-A72 ในอัตราส่วน 1.5, 1.0, 1.0% ตามลำดับและใช้ระยะเวลาการหมัก 4 วัน และ 6 วัน สำหรับการประเมินค่านอกจากจะอาศัยผลของเมล็ดสมบูรณ์และไม่สมบูรณ์แล้ว ยังศึกษาการเปลี่ยนแปลง

ทางเคมี กายภาพและจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักของทั้ง 4 กลุ่มการทดลองด้วย

เมล็ดหมักสมบูรณ์ ผลจากการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยการใส่กล้าเชื้อผสม พบว่าการใช้กล้าเชื้อมีผลต่อเมล็ดหมักสมบูรณ์ที่ดี ทั้งที่หมัก 4 วันและ 6 วัน โดยมีค่าเมล็ดหมักสมบูรณ์ (4/4F) 79-87 % อย่างไรก็ตามระยะเวลาการหมัก 6 วัน ให้ผลดีกว่า 4 วันเล็กน้อยแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ นอกจากนี้เมล็ดหมักไม่สมบูรณ์ยังมีค่าคืออยู่ระหว่าง 0-1.5 % ไม่มีเมล็ดที่เป็นหินขนวน (slaty) และมีเชื้อรา (Table 2) จากค่าต่างๆที่วิเคราะห์ได้สามารถสรุปได้ว่าเมล็ดโกโก้ที่หมักด้วยกล้าเชื้อผสมนี้มีคุณภาพดีและจัดอยู่ในมาตรฐานเกรด 1 ของการค้าขายเมล็ดโกโก้แห่ง (Wood and Lass, 1985)

คุณภาพของเมล็ดโกโก้ที่หมักด้วยกล้าเชื้อผสมในการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ามีเมล็ดหมักสมบูรณ์

Table 2 Quality of cocoa fermentation with selected inoculum on farm trial which evaluated by cut test.

Fermentation farm trial	4 day fermentation			6 day fermentation.		
	4/4F	3/4F	2/4F-1/4F	4/4F	3/4F	2/4F-1/4F
Farm Trial 1						
Control	48.0	40.0	1.2	61.0	37.0	2.0
Inoculum	79.0	20.0	1.0	81.0	18.0	-
Farm Trial 2						
Control	45.0	33.0	20.0	63.0	32.0	5.0
Inoculum	79.0	19.5	1.5	82.0	17.0	1.0
Farm Trial 3						
Control	45.0	43.0	12.0	60.0	36.0	4.0
Inoculum	84.0	16.0	-	83.0	17.0	-
Farm Trial 4						
Control	44.0	50.0	6.0	69.0	31.0	-
Inoculum	80.0	20.0	-	87.0	13.0	-

Control = Normal fermentation.

79-87 % ซึ่งเป็นค่าที่ใช้พิจารณาในทางการค้าสำหรับเมล็ดโกโก้หมัก ถ้าเมล็ดหมักสมบูรณ์มีค่าสูง (60-80 %) การกำหนดราคาซื้อก็สูงขึ้นด้วย ดังนั้นถ้าเกษตรกรได้มีการปรับปรุงกระบวนการหมักโดยใช้กล้าเชื้อผสมดังกล่าวแล้วราคารับซื้อเมล็ดโกโก้ที่หมักได้ก็ควรจะสูงขึ้นกว่าที่เป็นอยู่ในปัจจุบัน

อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาที่ได้ชี้ให้เห็นความจำเป็นในการศึกษาความสัมพันธ์ของส่วนประกอบทางเคมีชนิดที่มีความสำคัญต่อคุณภาพของเมล็ดโกโก้ที่หมักด้วยกล้าเชื้อ พร้อมทั้งควรมีการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วย

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณการสนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้ต่อสภาวิจัยแห่งชาติ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มา ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

- อรพิน ภูมิภมร และ จันทนา จินดา .2539. การหมักโกโก้ I: การจำแนกและศึกษาเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์จาก การหมักโกโก้ธรรมชาติ. ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย์) 30:65-73.
- อรพิน ภูมิภมร, ปิยนุช นาคะ, และ อัมพล จุลสวัสดิ์. 2536. การหมักโกโก้ II: ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ ฟิสิกส์ และเคมี ระหว่างการหมักโกโก้. ว. เกษตรศาสตร์(วิทย์) 27:303-313.
- A.O.A.C. 1992. Official Method of Analysis of the Association of Analytical Chemists. 18 th ed. Association of Official Analytical Chemist. Arlington Virginia USA. 1141 p.
- Cros. E., M. Rouly and F. Villeueue. 1982. Search for a Fermentaion Index of Cacoas. Estimation of the red colouring matter of cacao beans. France-Cafe, Cocoa, The Planter. 26:115-122.
- Gourieve, K. B. and O.B. Tservevitinove. 1979. Method of evaluation the degree of fermentation of cocoa bean, USSR. Satae Comittee on Invention and Discoveries. VOC.663:13.
- Jinap, S. and P. S. Dimick. 1991. Acidic characteristics of fermentation and fried cocoa bean from different contries of origin. J. Food Sci. 55:547-50.
- Lopez, A. 1983. Factors associated with cocoa bean acidity and the possibility of its reduction by improved fermentation. Rev. Theobroma. 13:233-248.
- Meyer, B., B. Biehl, M.B. Said, and R. J. Samarrakoddy. 1989. Post-harvest pod storage: a method for pulp preconditioning to impair strong nib acidification during cocoa fermentation in Malaysia. J. Sci. Food Agri. 48:285-304.
- Niimoto, H and K. Tanitsu. 1974. The Quality Assessment of Cocoa Beans Produced in Nigeria, Sabah and Papua New Guinea Meiji Seika Kaishe, Ltd., Tokyo. 32 p.
- Ostavar, K. and P. G. Keeney. 1973. Isolation and characterization of microorganisms improved in the fermentation of Trinidad's cocoa beans. J. Food Sci. 38:611-617.
- Samah, A.O., M. Fared, M. Putih, and J. Selamat. 1992. Biochemical changes during fermentation of cocoa beans inoculated with *Saccharomyces cerevisiae* (wild strain). J. Fd. Sci. Technol. 29:341-343.
- Sanchez, J. G. Daguene, J.P. Guiraud, J. C. Vincent, and P. Galzy. 1985. A study of the yeast flora

- and the effect of pure culture seeding during the fermentation process of cocoa bean. *I Lebensmitt-Wissenschaft and Technologie*. 18:69-75.
- Shepherd, R. C. , C. F. Chong, J. G. Taylor, and J. D. Menneer. 1984. Commercial production of low acid beans, pp.1-14. *In International Conference on Cocoa and Coconut*. Vincent, J. C. 1983. Cocoa fermentation in a three stages fluidised bed. *Institute de Research du Cafe Et Du cocoa*.
- Shibani, S., M.B. Said, and S.A.H. AlEdrus. 1981. Preliminary studies on the breakdown of cocoa pulp by yeasts *Proc. Mal. Biochem. Soc. Conf.* 7:114-122.
- Vincent, J.C. 1983. Cocoa Fermentation in a Three Stages Fluidised Bed. *Institute de Research du Cafe Et Du Cocoa*. 109 p.
- Wimbrone, P.M. and P.A.D. Richard. 1978. Pectinolytic activity of *Saccharomyces fragilis* cultured in controlled environments. *Biotechnol. Bioeng.* 20:231-242.
- Wood, G. A. R. and R. A. Lass. 1985. Cocoa. 4 th ed. *Tropical Agriculture Series*. Longman New York. 342 p.