

การหมักโกโก้ : ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ ฟิสิกส์ และเคมี ในระหว่างการหมักโกโก้

Cocoa Fermentation : Study of Microbiological, Physical and Chemical Changes during Cocoa Fermentation

อรพิน ภูมิภมร¹ ปิยนุช นาคะ² และอัมพล จุลสวัสดิ์²

Orapin Bhumibhamon ,Piyanuch Naka and Umpol Julsawad

ABSTRACT

Studies on environmental change during cocoa fermentation were carried out in baskets and wooden boxes, storing cocoa pods for 4 and 7 days after harvesting. During fermentation materials were sampled and analysed at intervals.

Beans fermented in boxes shiftly better cut test value than those kept in baskets. Fully fermented (F) bean of 54-67% , and 28-45% of 3/4 fermented beans were found in boxes, 50-56% of fully fermented beans, 43-49% of 3/4 fermented beans in baskets. All fermented batches showed slaty less than 3%.

The proximate analysis showed that fat content in unfermented and fermented beans were similar, at 55%, Ash and fiber in fermented beans was slightly less than in unfermented beans. The protein content decreased 1-2% by the end of the fermentation. The temperature during fermentation reached 45°C, after storage of cocoa pods for 4 days and 7 days, in 48 and 24 hours respectively. Mesophilic and thermophilic yeast and bacteria were also found. The pH of the fermented cocoa both in baskets and boxes were at 4.7-6.7

Key words : cocoa fermentation, microorganism, physical and chemical changes.

บทคัดย่อ

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเมล็ดโกโก้ในระหว่างกระบวนการหมัก ได้ใช้โกโก้ที่เก็บไว้ทั้งผลก่อนหมัก 4 วัน และ 7 วัน ทำการหมักในแข่งผลไม้เป็นระยะเวลา 6 วัน ในช่วงที่มีการหมักนี้ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างทางฟิสิกส์ เคมี และจุลินทรีย์ ผลของการศึกษาจากการทำ cut-

ting test พบว่า เมล็ดโกโก้ที่หมักในลังมีคุณภาพดีกว่าเมล็ดที่หมักในแข่งเล็กน้อย การหมักในลังไม้ให้เมล็ดหมักสมบูรณ์ (F) อยู่ร้อยละ 54-67 เมล็ดหมักเกือบสมบูรณ์ (3/4F) ร้อยละ 28-45 ส่วนการหมักในแข่งให้เมล็ดหมักสมบูรณ์และเกือบสมบูรณ์ร้อยละ 50-56 และ 43-49 ตามลำดับ ในทุกการทดลองเมล็ดที่มีผิวค้ำที่เป็นหินขนวน (slaty) มีไม่เกินร้อยละ 3 จากการวิเคราะห์ส่วนประกอบ

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Dept. of Biotechnology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

² หน่วยวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Horticulture Research Unit, Ministry of Agriculture and Cooperation.

ทางเคมี พบว่า เมล็ดก่อนและหลังหมักมีปริมาณไขมันที่ไม่แตกต่างกัน โดยมีปริมาณร้อยละ 55 ปริมาณเถ้าและเส้นใยในเมล็ดโกโก้หลังหมักมีน้อยกว่าก่อนหมักเล็กน้อย ส่วนประกอบโปรตีนจะลดลงไปร้อยละ 1-2 เมื่อขบวนการหมักสิ้นสุด การเก็บผลโกโก้ 4 และ 7 วัน ก่อนหมักทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 45°C ใน 48 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ มีสภาพความเป็นกรดค่า 4.7-6.7 ในการหมักโกโก้ในทั้งสองภาชนะจะให้ผลไม่แตกต่างกัน ในระหว่างการหมักจุลินทรีย์ที่พบมีทั้งยีสต์และแบคทีเรีย

คำนำ

โกโก้เป็นไม้ผลที่มีผู้นิยมนำมาแปรรูปเป็นอาหาร เช่น ทำเครื่องดื่ม ทำช็อกโกแลต อุตสาหกรรมยาโรคาและเครื่องสำอาง เป็นต้น ประเทศไทยได้นำเข้าผลิตภัณฑ์โกโก้ส่วนใหญ่มาจากต่างประเทศ แม้ว่าลักษณะภูมิอากาศของไทยจะเหมาะสมต่อการปลูกโกโก้ได้ดีโดยเฉพาะการปลูกโกโก้เป็นพืชแซมในสวนมะพร้าว ซึ่งใช้ใบมะพร้าวเป็นร่มเงา ปัจจุบันได้มีการส่งเสริมการปลูกต้นโกโก้มากขึ้น เพื่อเสริมรายได้ให้เกษตรกร และมีการปลูกมากในแถบจังหวัดภาคใต้จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ และนครศรีธรรมราช ส่วนในท้องที่ภาคกลางได้ส่งเสริมให้ปลูกที่จังหวัดสมุทรสงคราม และสมุทรสาคร เป็นต้น ดังนั้นจึงเห็นความจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาในเรื่องเกี่ยวกับการหมักโกโก้ขึ้นในประเทศไทย เพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุงการหมักโกโก้ให้มีคุณภาพต่อไป

การหมักโกโก้ นั้น มีกระบวนการสองอย่างเกิดขึ้นในขณะเดียวกัน อันมีผลต่อกลิ่น รส และคุณภาพของโกโก้คือ กระบวนการที่เกิดขึ้นจากการทำของจุลินทรีย์ (external microbiology process) มีผลให้เกิดผลิตภัณฑ์หมักหลักคือ เอทานอล และกรดอะซิติก ส่วนอีกกระบวนการหนึ่งเกิดจากภายในเมล็ดโกโก้ (internal autolytic process) ซึ่งเป็นกระบวนการย่อยสลายสารภายในเมล็ดโกโก้ อันเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ที่มีอยู่ในเมล็ดโกโก้เอง (Sheherd and Hong, 1979; Sabani and Said, 1981;

Wood and Lass, 1985) ดังนั้น คำว่าการหมักโกโก้ (cocoa fermentation) ที่ปรากฏอยู่ในพจนานุกรมทุกเล่มจึงใช้คำจำกัดความของการหมักว่าเป็นขบวนการของจุลินทรีย์ การกระทำของเอนไซม์ และการปรับปรุงรส (flavour) คุณภาพของโกโก้หมักที่ดี จึงจำเป็นจะต้องมีกระบวนการหมักที่เหมาะสมจากจุลินทรีย์และสายพันธุ์โกโก้ที่ดีเช่นเดียวกัน ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีความประสงค์การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ และการเปลี่ยนแปลงเคมีและฟิสิกส์ของกระบวนการหมักโกโก้ธรรมชาติ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ผลโกโก้และการเก็บก่อนหมัก

ใช้ผลโกโก้จากแหล่งอำเภอสวี จังหวัดชุมพร โดยเก็บผลโกโก้ไว้ที่อุณหภูมิห้องภายในเรือนโกโก้ เป็นระยะเวลา 4 และ 7 วัน เพื่อศึกษาผลของการเก็บต่อการหมักโกโก้

ภาชนะหมักโกโก้

ภาชนะที่ใช้หมักโกโก้ที่เกษตรกรใช้ส่วนใหญ่จะใช้แข่งผลไม้หรือถังไม้ ในการศึกษาครั้งนี้ จึงได้ทดลองใช้แข่งผลไม้ที่มีขนาดกว้าง 75 เซนติเมตร ส่วนถังไม้มีขนาด $30 \times 30 \times 40$ เซนติเมตร โดยเจาะรูด้านข้างและด้านล่างของถังด้วย เพื่อให้ระบายไอน้ำออกได้ในระหว่างการหมัก

การหมักโกโก้และการทำให้แห้ง

ทำการผ่าผลโกโก้แล้วแกะเอาเมล็ดโกโก้ที่ติดเนื้อหุ้ม (pulp) ออก นำเมล็ดโกโก้สดใส่ลงภาชนะที่เป็นแข่งจำนวน 80 กิโลกรัม และใส่ในถังไม้ 40 กิโลกรัม ปิดปากภาชนะด้วยถุงปุ๋ยและคลุมทับด้วยกระสอบป่อ และวางไว้ในห้องเปิดโล่ง โดยอุณหภูมิห้องในช่วงกลางคืนจะมีอุณหภูมิประมาณ $25-28^{\circ}\text{C}$ และกลางวันจะมีอุณหภูมิประมาณ $28-32^{\circ}\text{C}$ ในระหว่างการหมักจะมีการกลับโกโก้วันละครั้งในระยะ 2 วันแรก เมื่อการหมักสิ้นสุดในวันที่ 6 จึงนำเมล็ดโกโก้หมักไปตาก จนกระทั่งเมล็ดโกโก้หมักมีความชื้น

ไม่เกินร้อยละ 7.0 ระหว่างการหมักทำการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ที่ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 วัน

การวิเคราะห์

1. วัดอุณหภูมิในกองโกโก้หมักทุกๆ 6 ชั่วโมง โดยแบ่งตำแหน่งวัด 3 จุด คือ ส่วนบน ส่วนกลาง และส่วนล่างของภาชนะ

2. นำตัวอย่างมาหาปริมาณ เชื้อรา ยีสต์ แบคทีเรีย และבקเตรีผลิตรคอะซิดิก ทั้งนี้โดยใช้อาหารแยกเชื้อเฉพาะอย่าง เช่น potato dextrose agar, acetic acid agar, glucose triptose agar, nutrient agar นำตัวอย่างบางโคโลนีมา จำแนกด้วยวิธีมาตรฐาน (Buchanan and Gibbons, 1974)

3. วัดการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในส่วนที่เป็นเนื้อหุ้ม (pulp) โดยการผ่าแยกเชื้อหุ้มออกแล้วใช้น้ำกลั่นเป็นตัวกลั่นกรองแล้วเอาส่วนใสไปวัด pH และส่วนที่เป็นเมล็ดโกโก้จะทำการบดก่อน (AOAC, 1990)

4. วิเคราะห์ proximate analysis ของเมล็ดโกโก้ก่อนและหลังหมักตามวิธีของ AOAC (1990)

5. การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดโกโก้หมัก ด้วยการ ทำ cut test โดยการสุมตัวอย่างและการตากแห้งแล้วจำนวน 100 เมล็ด ใช้กรรไกรตัดเมล็ดโกโก้ตามยาว วางเรียงกันจนครบ 100 เมล็ด คูณเมล็ดโกโก้ได้โคมไฟโดยใช้แสง day light แล้วพิจารณาเชื้อรา แมลงกัดกิน เมล็ดงอก เมล็ดค้ำเป็นหินชนวน (slaty) และความสมบูรณ์ของการหมัก (Fully fermentation) โดยดูการเปลี่ยนแปลงจากสีม่วงเป็นสีน้ำตาล (Wood and Lass, 1985)

ผลและวิจารณ์

สถานะของการหมักทั่วไป

สถานะการหมักโกโก้ทั้งในภาชนะที่เป็นแข็งหรือถังไม้ บริเวณด้านบนจะเป็นสถานะที่มีอากาศ ส่วนบริเวณกลางจะเป็นสถานะที่ไม่มีอากาศ การทดลองได้ทำการกลับ

กองวันละครั้งใน 2 วันแรกของการหมัก หลังจากนั้นจะไม่มีการกลับกอง จนกระบวนการหมักสิ้นสุดในวันที่ 8 ผลการกลับกองมีผลต่อสภาวะของการหมัก ถ้ามีการถ่ายเทอากาศที่ดี มีผลทำให้เกิดการผลิตรคอะซิดิก และการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ (Dougan *et al.*, 1981) ความเหมาะสมของความเป็นกรดและอุณหภูมิในกองหมักโกโก้ มีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์ภายในเมล็ดโกโก้ซึ่งมีผลต่อ กลิ่น รส ของโกโก้ซึ่งเป็นคุณภาพที่สำคัญของโกโก้ ถ้าการกลับกองถ้าทำทุกวันจะมีผลทำให้อุณหภูมิต่ำ ซึ่งไปลดอัตราของเมตาบอลิซึม และมีกรดอะซิดิกมากเกินไปในเมล็ดโกโก้แห้ง ทำให้เมล็ดโกโก้แห้งมีรสเปรี้ยว ส่วนการกลับโกโก้ในช่วง 2-3 วันแรก จะช่วยเพิ่มออกซิเจนในกองโกโก้ และหลังจากนั้นไม่จำเป็นที่จะต้องมีการกลับกองโกโก้ อีก (Dougan, 1980)

ชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักโกโก้

ในกระบวนการหมักโกโก้ ชนิดจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญได้แก่ยีสต์ ซึ่งจะใช้สารอาหารน้ำตาลจากเนื้อหุ้มเมล็ดโกโก้เพื่อการเจริญและผลิตเอทานอล จากนั้นในสภาวะที่มีอากาศ แบคทีเรียชนิดผลิตรคอะซิดิกจะออกซิไดซ์เอทานอลให้เป็นกรดอะซิดิก (Shepherd and Hong, 1979; Sabani and Said 1981; Wood and Lass, 1985) นอกจากนี้ยังมีการเจริญของแบคทีเรียอื่นๆ ที่ปะปนมากับวัตถุดิบและภาชนะหมัก ในการทดลองครั้งนี้พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์จะแตกต่างกันไปในแต่ละการทดลอง ทั้งนี้เพราะลักษณะการหมักเป็นการหมักโดยธรรมชาติไม่มีการทำให้ปลอดเชื้อ เพราะการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในการหมักนั้น ขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์ธรรมชาติหลายชนิดด้วยกัน ยังไม่มีการศึกษาการใช้เชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งผลการทดลองได้แสดงไว้ใน Table 1-4 ดังนี้

ยีสต์ ยีสต์ที่พบเป็นพวกที่เจริญในอุณหภูมิปานกลาง (mesophilic yeast) โดยมีปริมาณมากในช่วงแรกๆ ของการหมัก จากนั้นปริมาณยีสต์จะน้อยลง ซึ่งเห็นได้ชัดในภาชนะที่เป็นถังไม้ (Table 1-2) ส่วนภาชนะที่เป็นแข็งปริมาณยีสต์ตลอดการทดลองมีการเปลี่ยน

Table 1 Changes in number of microorganisms in cocoa bean during box fermentation of 4 day-storage pods.

Fermentation (days)	Yeast (x10 ⁴ cell/g)			Bacteria (x10 ⁵ cell/g)			Acetic acid bacteria (x 10 ⁵ cell/g)		
	30°C	37°C	45°C	30°C	37°C	45°C	30°C	37°C	45°C
0	17	5	—	250	45	75	15.5	35	—
0.5	164	25	—	61	21	27	39.5	60	25
1.0	32	2.5	—	20	29	21.5	45	100	90
1.5	1	5	—	65	110	25	150	125	110
2.0	1.5	0.5	—	30	14	125	20	60	40
2.5	2.5	1.5	—	140	14.5	15	14.5	24	5.5
3.0	2	2.5	—	210	9	140	113	5	4
4.0	4	1.5	—	46	110	20	54	35	10
5.0	2.5	2.3	—	98	18	125	37.5	5	2
6.0	3.1	2.4	—	38	21	190	45	12.5	9

Table 2 Changes in number of microorganisms in cocoa bean during box fermentation of 7 day-storage pods.

Fermentation (days)	Yeast (x10 ⁴ cell/g)			Bacteria (x10 ⁵ cell/g)			Acetic acid bacteria (x 10 ⁵ cell/g)		
	30°C	37°C	45°C	30°C	37°C	45°C	30°C	37°C	45°C
0	160	—	—	110	90	—	150	125	—
0.5	30	—	—	90	29	—	160	4	—
1.0	14.5	20	—	30	7.5	14	210	23	—
1.5	33	15	—	30	25	30	75	80	—
2.0	5	40	—	7.5	7.5	27.5	4	5	—
2.5	15	20	—	20	5	15	9	—	5
3.0	18	5	—	25	100	25	2	5	12.5
4.0	15	40	—	30	20	6	30	10	75
5.0	16.5	16.5	—	15	20	11	75	—	20
6.0	37.5	40	—	60	250	15	28	—	50

แปลงที่ ขึ้นๆ ลงๆ แต่การลดลงไม่รุนแรงเท่าการหมักในถังไม้ (Table 3-4)

แบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติก แบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติกมีทั้งที่เจริญในอุณหภูมิปานกลางเป็นส่วนใหญ่ ถือเป็นพวก low mesophilic แบคทีเรีย ส่วนพวก high mesophilic คือ เจริญที่ 45°C นั้นมีส่วนน้อย (Table 1-4)

อย่างไรก็ตามปริมาณจุลินทรีย์จะลดลงเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น

แบคทีเรียชนิดอื่นๆ ในการทดลองครั้งนี้ยังพบว่ามีแบคทีเรียอื่นๆ ที่ปะปนมาในขบวนการหมักเป็นจำนวนมากกว่ายีสต์และแบคทีเรียผลิตกรดอะซิติก และเป็นชนิด low mesophilic และ high mesophilic (Table 1-4) ซึ่ง

Table 3 Changes in number of microorganisms in cocoa bean during basket fermentation of 4 day-storage cocoa pods.

Fermentation (days)	Yeast ($\times 10^4$ cell/g)			Bacteria ($\times 10^5$ cell/g)			Acetic acid bacteria ($\times 10^5$ cell/g)		
	30°C	37°C	45°C	30°C	37°C	45°C	30°C	37°C	45°C
0	30	–	–	4	3	–	145	15	4
0.5	17.5	15	–	45	20	40	7.5	300	–
1.0	9	5	–	100	50	125	100	25	–
1.5	5	18	–	70	64	141	38.5	75	14
2.0	60	10	–	65	94	83	26	94	17.5
2.5	42.5	57.5	–	20	25	25	19	75	2
3.0	20	15	–	39	32.5	32.5	20	1	–
4.0	26	10	–	28	30	36	11	11	7
5.0	79	15	–	–	40	40	1	18	15
6.0	9	12.5	–	150	30	30	18	34.5	10.5

Table 4 Changes in number of microorganisms in cocoa bean during busket fermentation of 7 day-storage cocoa pods.

Fermentation (days)	Yeast ($\times 10^4$ cell/g)			Bacteria ($\times 10^5$ cell/g)			Acetic acid bacteria ($\times 10^5$ cell/g)		
	30°C	37°C	45°C	30°C	37°C	45°C	30°C	37°C	45°C
0	30	–	–	4	3	–	145	15	4
0	42.5	–	–	42.5	3	–	14.5	15	–
0.5	120	16	–	100	25	6	36	70	17.5
1.0	30	2.5	55	30	40	55	20	12	
1.5	21	9	–	3.5	23	96	15.5	22.5	20
2.0	14	18	–	18	60	60	17.5	17.5	40
2.5	35	27.5	–	30	150	150	27.5	5	125
3.0	15	30	–	42.5	4.5	140	77.5	17.5	32.5
4.0	22.5	19.5	–	21	19.5	48	35	9	1.5
5.0	77	12.5	–	30	42.5	16	42.5	9	18
6.0	29	95	–	20	36	28	14.5	6	14

Table 5 Changes of pH in cocoa beans during box fermentation.

	Fermentation (days)									
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.3	3.0	4.0	5.0	6.0
pH of pulp										
batch 1	4.0	4.2	3.8	3.7	3.9	3.8	4.0	4.5	5.4	4.9
batch 2	4.0	4.0	3.8	3.6	3.5	3.8	3.8	4.5	4.2	4.5
batch 3	3.8	3.5	3.8	3.4	3.7	4.2	4.2	4.8	4.9	5.2
pH of bean										
batch 1	6.3	7.3	6.9	5.9	5.0	4.8	4.7	5.2	4.8	5.0
batch 2	5.5	6.3	6.2	5.9	4.9	5.1	4.8	6.4	5.8	4.9
batch 3	6.2	6.0	5.4	5.1	4.9	5.2	5.9	5.2	5.5	6.7

Note: batch 1,2 = using 4 day-storage pods

batch 3 = using 7 day-storage pods

Table 6 Changes of pH in cocoa beans during basket fermentation.

	Fermentation (days)									
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.3	3.0	4.0	5.0	6.0
pH of pulp										
batch 1	4.0	3.8	3.5	3.4	3.7	4.1	4.3	4.5	4.5	5.0
batch 2	4.0	3.5	3.4	3.4	3.5	3.9	4.2	4.5	4.5	5.2
batch 3	3.8	3.3	3.4	3.7	3.9	4.3	4.4	5.1	5.2	5.3
pH of bean										
batch 1	5.6	5.2	5.9	5.3	5.1	4.9	5.0	6.4	4.9	4.7
batch 2	5.6	6.1	6.0	5.6	5.2	4.8	5.0	6.4	5.3	5.1
batch 3	6.2	5.7	4.5	5.0	4.8	5.0	5.0	6.3	6.5	6.6

Note: batch 1,2 = using 4 day-storage pods

batch 3 = using 7 day-storage pods

แบคทีเรียเหล่านี้อาจรวมทั้งพวกผลิตกรดแลคติก และพวกสร้างสปอร์ได้ด้วย (Carr *et al.*, 1979, 1980)

ความเป็นกรดที่เกิดขึ้น

ในระหว่างการหมักโกโก้ ได้ทำการวัด pH ของเมล็ดและเนื้อหุ้มเมล็ดโกโก้ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสภาพกรดต่างอยู่ระหว่าง 3.5–5.3 และ 4.9–6.7 โดยไม่มีความแตกต่างกันเมื่อใช้ผลโกโก้ที่เก็บไว้ก่อนหมัก 4 วัน หรือ 7 วัน ทั้งที่หมักในภาชนะที่เป็นถังไม้และเป็นเข่ง (Table 5, 6) การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง ในส่วนที่เป็นเนื้อหุ้มเมล็ดภายนอกนี้เกิดจากจุลินทรีย์ธรรมชาติที่

ใช้สารอาหารจากเนื้อหุ้มเมล็ดเพื่อการเจริญและเกิดกระบวนการเมตาบอลิซึมของชีวภาพเหล่านี้ โดยแบคทีเรียจะเปลี่ยนเอทานอลให้เป็นกรดอะซิติก ในสภาวะที่มีอากาศ นอกจากนี้ยังมีกรดซิตริกและแลคติกเกิดปะปนมาด้วย (Dougan *et al.*, 1981) และ ในช่วงปลายของการหมัก ความเป็นกรด-ด่าง จะเพิ่มขึ้นถึงระดับ 5.3 ทั้งนี้เพราะกรดเหล่านี้จะถูกออกซิไดซ์โดยจุลินทรีย์ชนิดอื่น คือ *Micrococcus* (Carr *et al.*, 1979) ทำให้ความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น สำหรับสภาพกรด-ด่างในเมล็ดโกโก้ที่ได้จากการเก็บผลโกโก้ไว้ 4 วัน ก่อนหมักนั้นจะมีค่าลดลงเมื่อระยะการหมักเพิ่มขึ้น คือจะเปลี่ยนจากสภาพกรด-ด่างเริ่ม

ต้น 5.6 ลดลงเหลือ 5.1 ส่วนสภาพกรด-ด่าง ของเมล็ดโกโก้หมักที่ได้จากการเก็บผลโกโก้ไว้ 7 วัน จะมีค่าสูงกว่า ซึ่งพบในทั้งสอภษณะที่ใช้ (Table 5,6) การเปลี่ยนแปลงสภาพกรด-ด่างของเนื้อหุ้มภายนอกและภายในเมล็ดมีความสำคัญต่อการหมักโกโก้ กล่าวคือสภาพกรด-ด่างภายนอกที่มีลักษณะเป็นกรดต่ำ นอกจากจะมีผลช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่น ที่อาจมีผลทำให้เมล็ดโกโก้เน่าเสียในระหว่างการหมักแล้ว ความเป็นกรด-ด่างนี้ยังซึมผ่านผนังเซลล์เมล็ดโกโก้ เข้าไปในเมล็ดโกโก้ มีผลทำให้สภาพกรด-ด่าง ภายในเมล็ดโกโก้เป็นกรด ซึ่งจะไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ที่อยู่ภายในเมล็ดโกโก้ ซึ่งระดับที่เหมาะสมคือ ระดับกรด-ด่าง 3.5–5.0 (Lehrian and Patterson, 1983) การทำงานของเอนไซม์ ภายในนั้นก่อให้เกิดสารนำกลิ่น (flavour precursor) ของโกโก้ อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงของระดับกรด-ด่าง ภายในเมล็ดโกโก้ที่ศึกษาครั้งนี้อยู่ระหว่าง 4.5–6.7 และความเป็นกรดภายในเมล็ดยังมีประโยชน์ต่อการยับยั้งการออกของเมล็ดโกโก้ได้อีก ซึ่งการออกนั้นเป็นลักษณะที่ไม่ต้องการของเมล็ดโกโก้ที่ดี ดังปรากฏผลในรายงานของ cut test

Table 7 Cut test determination in fermentation of cocoa beans.

Ferment- ation	Cut test				
	F(%)	3/4 F(%)	1/2 F(%)	2/4 F(%)	S%
Basket Fermentation					
batch 1	56	35	6	–	1
batch 2	56	43	1	–	–
batch 3	50	49	1	–	–
Box Fermentation					
batch 1	54	45	1	–	–
batch 2	60	37	2	–	1
batch 3	67	28	2	1	2

Note: batch 1,2 = using 4 day-storage pods

batch 3 = using 7 day-storage pods

F = Fully fermented

3/4F = 3/4 Fermented

1/2F = 1/2 Fermented

2/4F = 2/4 Fermented

(Table 7)

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ

อุณหภูมิที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักโกโก้ เกิดจากความร้อนที่ได้จากเมตบอไลซึมของจุลินทรีย์และการเพิ่มขึ้นของเซลล์จุลินทรีย์ การกลับกองมีผลทำให้อุณหภูมิสูงขึ้น อันเนื่องจากมีออกซิเจนเพื่อการเจริญของจุลินทรีย์ สำหรับอุณหภูมิที่วัดจากส่วนบน ส่วนกลาง และส่วนล่างของภาชนะจะมีความแตกต่างกันในช่วง 2 วันแรกที่มีการกลับกอง โดยอุณหภูมิส่วนบนจะสูงกว่าส่วนกลางและส่วนล่าง ทั้งนี้อาจเพราะมีการเจริญที่ดีของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตาม หลังจากการหมักสองวันไปแล้ว อุณหภูมิทั้งสามส่วนไม่มีความแตกต่างกันมากในภาชนะหมักเดียวกัน (Figure 1, 2) อย่างไรก็ตามการทดลองที่เก็บผลโกโก้ไว้ 4 วันก่อนหมักการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจะช้ากว่าผลโกโก้ที่เก็บไว้ 7 วัน ไม่ว่าจะหมักในเชิงหรือตั้งไม้ กล่าวคืออุณหภูมิของการทดลองของผลโกโก้เก็บ 4 วัน และ 7 วัน จะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจาก 25–30°C ถึง 40–48°C จากกราฟแสดงอุณหภูมิค่อนข้างจะคงที่หลังจากการหมักผ่านไป 2 วันจึงเป็นข้อมูลที่เสริมได้ว่าไม่จำเป็นจะต้องมีการกลับกองหลังจากหมักไปแล้ว 2–3 วัน เพราะอุณหภูมิในกองหมักจะเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ของเมล็ดโกโก้หมักตามที่ Lehrian และ Patterson (1983) รายงานว่า เอนไซม์ในโกโก้ที่ย่อยสลาย flavour precursor ได้ดีที่อุณหภูมิ 45°C pH อยู่ระหว่าง 3.0–5.0

การตรวจสอบคุณภาพด้วย cut test

จากการตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดโกโก้หมักที่ทดลองครั้งนี้ปรากฏว่า ไม่พบเมล็ดที่มีเชื้อราเจริญ เมล็ดไม่งอก เมล็ดไม่ถูกทำลายโดยแมลง และมีผิวหน้าด้านเป็นหิน ขนวนไม่เกิน 3% ของการทดลองทั้งหมด โกโก้ที่หมักได้ถึงไม่มีเมล็ดที่หมักสมบูรณ์ (Fully Ferment, F) อยู่ร้อยละ 54–67 ส่วนที่หมักในเชิงมีเมล็ดสมบูรณ์ร้อยละ 50–56 (Table 7) ดังนั้นการใช้ภาชนะตั้งไม้จึงมีแนวโน้มที่เหมาะสมกว่าการใช้เชิง

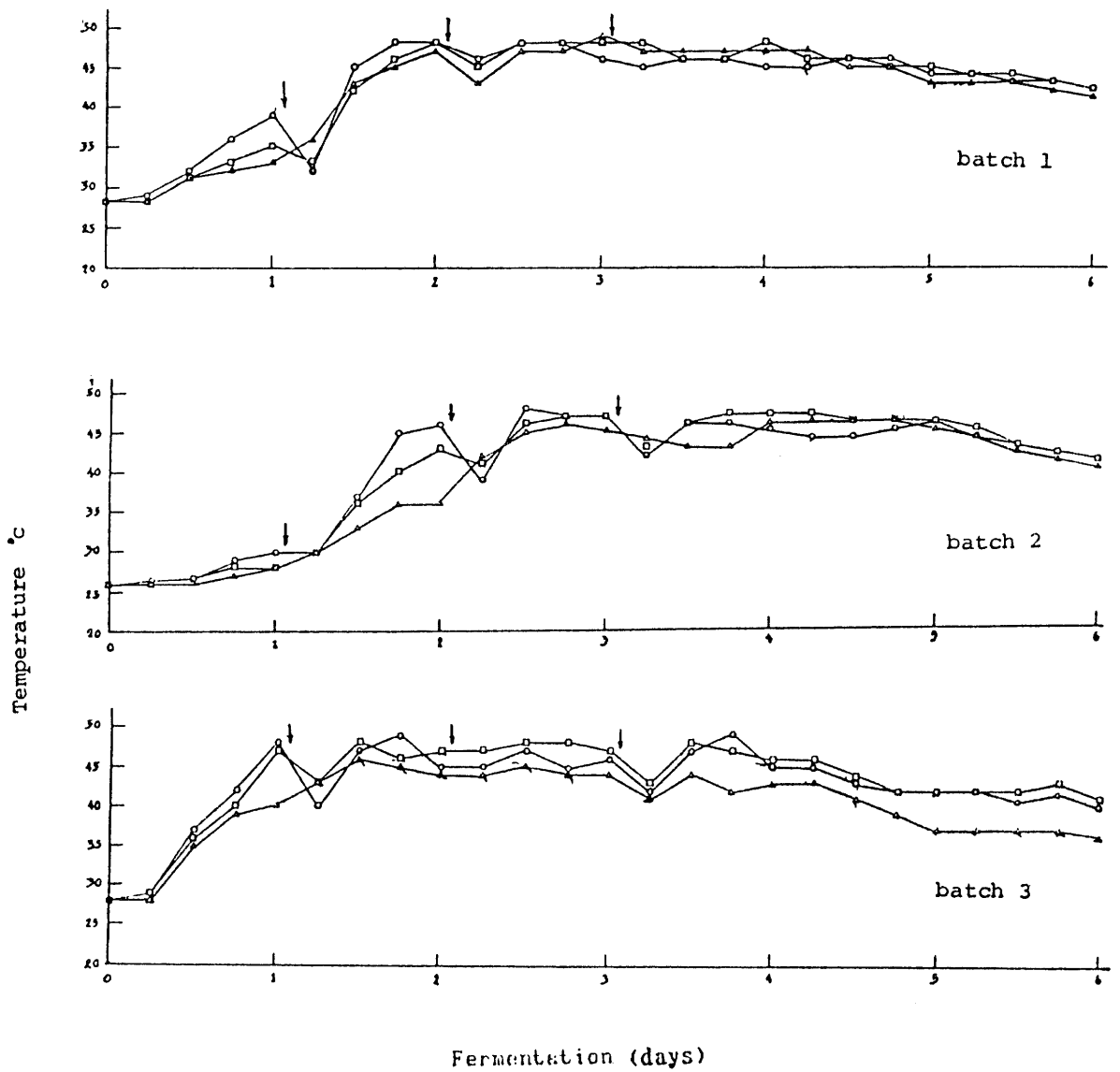


Figure 1 Changes in temperature during basket fermentation.

○ — ○ top, □ — □ center, △ — △ bottom

batch 1,2 = using 4 day-storage pods

batch 3 = using 7 day-storage pods

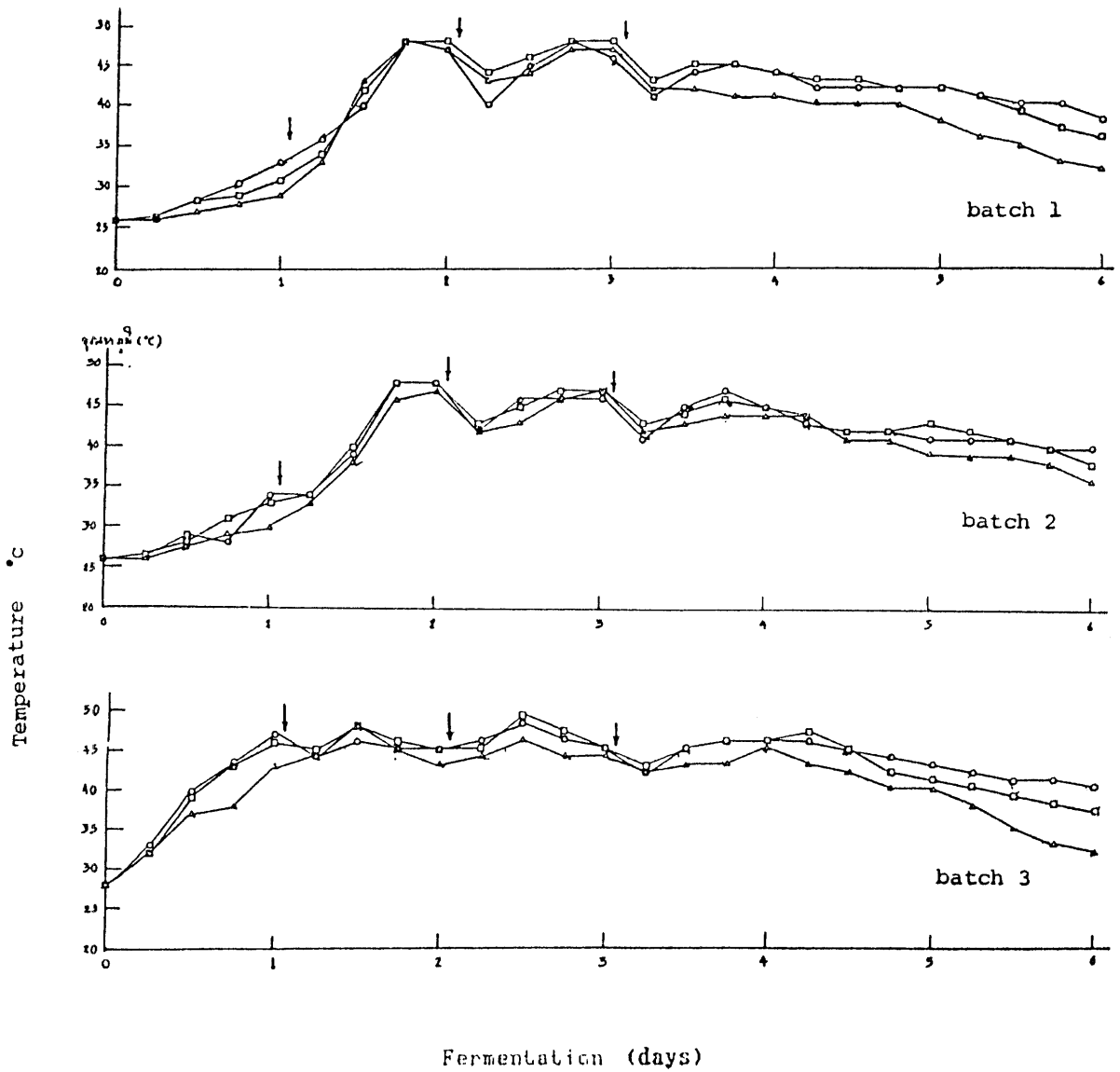


Figure 2 Changes in temperature during box fermentation.

○ — ○ top, □ — □ center, Δ — Δ bottom

batch 1,2 = using 4 day-storage pods

batch 3 = using 7 day-storage pods

Table 8 Chemical composition of cocoa beans before and after fermentation (dry weight)

	Moisture		Fat		Protein		Fiber		Ash	
	before	after	before	after	before	after	before	after	before	after
Basket Fermentation										
batch 1	6.9	6.9	54.9	11.6	9.0	0.4	0.3	3.3	2.6	
batch 2	6.7	6.3	55.5	55.7	11.7	9.1	0.3	0.3	3.7	2.7
batch 3	6.8	6.6	55.1	55.1	10.5	9.1	0.3	0.3	3.4	2.7
Box Fermentation										
batch 1	6.7	6.6	55.5	56.2	11.7	9.8	0.3	0.3	3.3	2.6
batch 2	6.7	6.5	55.5	55.5	11.7	9.2	0.3	0.3	3.3	2.6
batch 3	6.8	6.3	55.1	55.3	10.5	8.9	0.3	0.3	3.4	2.6
batch 4	6.8	6.5	55.1	55.7	10.5	9.1	0.3	0.2	3.4	2.6

Note: batch 1,2 = using 4 day-storage pods
batch 3 = using 7 day-storage pods

ส่วนประกอบทางเคมี

จากการนำเมล็ดโกโก้ก่อนหมักและหลังหมักและทำให้แห้งแล้วมาวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีแบบ proximate analysis พบว่าปริมาณไขมันมีร้อยละ 54-56 โดยไม่มีความแตกต่างระหว่างก่อนหมักและหลังหมัก ปริมาณโปรตีนมีประมาณร้อยละ 11-12 ก่อนหมักและหลังหมัก ปริมาณโปรตีนจะลดลงเหลือร้อยละ 8-9 ปริมาณเส้นใยลดลงหลังจากการหมักสิ้นสุดลง (Table 8)

จะเห็นว่าเมล็ดโกโก้มีไขมันซึ่งเรียกว่าเนยโกโก้ (cocoa butter) อยู่สูงซึ่งเนยโกโก้เป็นไขมันที่มีคุณภาพสูงและมีราคาแพงและนำไปใช้เป็นส่วนประกอบทำเครื่องสำอางได้อีกด้วย

สรุป

จากการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่า ในการหมักโกโก้ชั้น ภาชนะลังไม้จะให้คุณภาพเมล็ดโกโก้ดีกว่าการใช้ถังเล็ก น้อย และสามารถเก็บผลโกโก้ไว้ 4 วัน และ 7 วันก่อนหมัก แต่เก็บไว้ 7 วัน เมล็ดหมักสมบูรณ์จะมีมากกว่าเก็บผลไว้ 4 วัน ส่วนการกลับกองเพียง 2 ครั้ง ในสองวันแรกก็

มีผลต่อการควบคุมอุณหภูมิในกองหมักโกโก้ในระดับที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ภายในเมล็ดโกโก้ อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของ pH ภายในเมล็ดโกโก้ยังค่อนข้างต่ำที่สูงกว่าความเหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ ดังนั้นจึงเห็นสมควรที่จะมีการศึกษาเพื่อปรับปรุงการหมักต่อไป โดยมุ่งไปยังชนิดจุลินทรีย์ที่มีความเกี่ยวข้อง และ กลิ่นรสโกโก้ที่เกิดขึ้นด้วย พร้อมกับคุณภาพอื่นๆ ที่เป็นมาตรฐานโกโก้สากล

คำขอบคุณ

คณะผู้จัดทำขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ได้อุดหนุนงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- AOAC 1990. Official method of analysis of association of analytical chemists. 15th ed. Association of Official Analytical Chemist. U.S.A.
- Buchanan, R.E. and N.E. Gibbone (eds.). 1974. Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th ed. William & Wilkins Co. Baltimore.

- Carr, J.G., P.A. Davies and J. Dougan. 1979. Cocoa Fermentation in Ghana and Malaysia. University of Bristol Research Station, Long Ashton Bristol, and Tropical Products Institute Gray's Inn Road London. 200pp.
- Carr, J.G., P.A. Davies and J. Dougan. 1980. Cocoa Fermentation in Ghana and Malaysia (Part2) University of Bristol and Research Station, Long Ashton, Bristol and Tropical Products Institute, Gray's Inn Road London. 200pp.
- Dougan, J. 1980. Methods for the analysis of cocoa pulp and cotyledons. Tropical Products Institute, Gray's Inn Road, London. 250pp.
- Dougan, J., R.J.E. Duncan, N.J. Jerline, J.M.Robinson, P.M. Sanamons and C. Woodege. 1981. The relationship between oxygen, temperature, acetic and lactic acid during cocoa fermentation cocoa chocolate and confectionery. Allione, London. 250pp.
- Lehrian, D.W. and G.R. Patterson. 1983. Cocoa Fermentation. In Biotechnology Vol.5 (edt. by G. Reed) Verlag Chemie GmbH, Weinheim p.548.
- Sabani, S. and M. Said. 1981. Preliminary studies on the breakdown of cocoa pulp by yeast. Proc. Mal. Biochem. Soc. Conference. 7:144-172.
- Shepherd, R. and C.W. Hong. 1979. Prospects and problems of malaysian cocoa beans. The Manufacturing Confectioner. May. p.23-36.
- Wood, G.A.R. and R.A. Lass. 1985. Cocoa : Tropical Agriculture series 4th ed. Longman. New York. 342pp.