สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

นางสาวกาญจนา เชื้อเงิน
นางสาวจิตชนก สุขวิสุทธิ์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2538

ปว.
ก425ก
2538
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....25410
วัน, เดือน, ปี.....9 ก.ค. 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

Biochemical Changes during Fermentation of Cocoa Beans Inoculated with *Saccharomyces cerevisiae*

Kanchana Chueangern

Jitchanok Sukvisut

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the

Requirement for the degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1995

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการหมักเมล็ด โกโก้ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

โดย นางสาวกาญจนา เชื้อเงิน
นางสาวจิตชนก สุขวิสุทธิ์

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

---------- หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
(ดร. อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล)

คณะกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ

---------- ประธานกรรมการ
(รศ. ดร. ดุษฎี ธนะบริพัฒน์)

---------- กรรมการ
(อ. ดวงใจ โอชัยกุล)

---------- กรรมการ
(ดร. อรวรรณ ชัยลภากุล)

ลิขสิทธิ์นี้ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

โดย นางสาวกาญจนา เชื้อเงิน

นางสาวจิตชนก สุขวิสุทธิ์

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

ปีการศึกษา 2538

บทคัดย่อ

ยีสต์ แบคทีเรียแลคติก และแบคทีเรียอะซิติก เป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการหมักเมล็ดโกโก้ ในการทดลองนี้ใช้ยีสต์ คือ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นจุลินทรีย์เริ่มต้นในการหมักเมล็ดโกโก้ โดยมีความเข้มข้นของเชื้อร้อยละ 5 และร้อยละ 10 เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งไม่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ ทำการหมักในเข่งผลไม้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน และทำการกลับเมล็ดทุกๆ 2 วัน เมื่อทำการหมักเมล็ดโกโก้ครบ 7 วัน พบว่าอุณหภูมิที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักสูงสุดในวันที่ 3-4 หลังจากนั้นอุณหภูมิจะลดลงทุกชุดการทดลอง ค่าความเป็นกรด-ด่างของเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้จะสูงขึ้นขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างของเมล็ดโกโก้จะลดลงเรื่อยๆ จนสิ้นสุดการหมัก ปริมาณกรดทั้งหมดค่อยๆเพิ่มขึ้นและลดลงในช่วงท้ายของการหมักซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณกรดอะซิติก โดยจะพบปริมาณกรดอะซิติกสูงสุดในวันที่ 3 ของการหมักทุกชุดการทดลอง สำหรับปริมาณกรดแลคติกจะเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาของการหมัก ชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 5 จะมีปริมาณกรดต่ำสุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่น ปริมาณน้ำตาลซูโครสจะลดลงอย่างรวดเร็วในวันแรกของการหมักและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กลูโคส) มีแนวโน้มลดลงเช่นกัน สำหรับค่าดรรชนีการหมักในชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 5 จะมีค่าประมาณ 1 ในวันที่ 5 ของการหมักขณะที่ชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 10 และชุดควบคุม ค่าดรรชนีการหมักมีค่าประมาณ 1 ในวันที่ 7 จากการทำ cut-test พบว่าชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 10 มีเมล็ดโกโก้แห้งสีน้ำตาลร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขณะที่ชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 5 และชุดควบคุมมีเมล็ดโกโก้แห้งสีน้ำตาลร้อยละ 87.50 และ 87 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title Biochemical Changes during Fermentation of Cocoa Beans Inoculated with *Saccharomyces cerevisiae*

Name Miss Kanchana Chueangern
Miss Jitchanok Sukvisut

Special Project Advisor Mrs. Duangjai Ochaikul

Department Applied Biology

Acedemic year 1995

Abstract

Yeast, acetic acid bacteria and lactic acid bacteria play an important roles in cocoa fermentation. This experiment, cocoa beans were inoculated with *Saccharomyces cerevisiae* at concentration of 5% and 10% and fermented for 7 days at room temperature in fruit baskets. Fermented beans were overturned every two days. During fermentation the highest temperature was observed 3-4 days of incubation. After that the temperature was decreased in all treatments. While the pH of pulp was increased, the pH of cotyledon was decreased until the fermentation was finished. Concentration of acid was increased at the beginning of fermentation and then it was decreased at the end of fermentation which was related to acetic acid. Production of acetic acid was highest after three days of fermentation whereas concentration of lactic acid was increased gradually during fermentation. Treatment that inoculated with 5% *S. cerevisiae* produced lactic acid lower than other treatments. Concentrations of sucrose and reducing sugar (glucose) reduced rapidly on the first day. Fermented beans with 5% *S. cerevisiae* had fermentation index approximately 1 on the fifth day of fermentation whereas treatment with 10% *S. cerevisiae* and control had fermentation index approximately 1 on the seventh day of fermentation. The cut test showed that the treatments inoculated with 10%,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5% *S. cerevisiae* and control gave 95%, 87.5% and 87% of brown color, respectively. In all treatments, the concentrations of total acid, lactic acid, acetic acid, sucrose, reducing sugar, fermentation index and cut test were not significant.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่กรุณาให้คำแนะนำในการค้นคว้าวิจัย และตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษ อาจารย์อรวรรณ ชัยลภากุล ที่ให้คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยพืชสวนชุมพร ที่ให้ความช่วยเหลือและให้ความรู้ในการทำโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจตลอดมาขอขอบคุณเพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษ ทำให้โครงงานพิเศษสำเร็จสมบูรณ์

คณะผู้จัดทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ โครงงานพิเศษภาษาไทย	ก
บทคัดย่อ โครงงานพิเศษภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญรูป	ช
สารบัญตาราง	ซ
บทที่ 1	
บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	2
ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2	
1. พันธุ์โกโก้	4
2. ความเหมาะสมในการปลูกโกโก้ในประเทศไทย	5
3. การหมักเมล็ดโกโก้	6
4. ปัจจัยที่มีผลต่อการหมัก	9
5. การทำแห้ง	13
6. การตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดโกโก้แห้ง	14
7. การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้	16
8. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้	20
9. เอนไซม์ในเมล็ดโกโก้	24
10. คุณภาพและรสชาติ	25
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	29
บทที่ 4 ผลการทดลอง	32
บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
ภาคผนวก ก.	48
ภาคผนวก ข.	52
ภาคผนวก ค.	64
เอกสารอ้างอิง	72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1. การหมักในเข่ง	7
2. การหมักในลังไม้	8
3. การหมักเป็นกองสูงบนพื้น	9
4. การหมักในถาดไม้	10
5. การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้	36
6. การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลรีดิวซ์ในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้	36
7. การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลรีดิวซ์ในเมล็ดโกโก้	37
8. การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลซูโครสในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้	37
9. การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลซูโครสในเมล็ดโกโก้	38
10. การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติกระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้	38
11. การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ระเหยได้ระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้	39
12. การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้	39
13. การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในเมล็ดโกโก้	40
14. การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้	40
15. การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดในเมล็ดโกโก้	41
16. การเปลี่ยนแปลงค่าดรรชนีการหมักในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้	41
17. แสดงต้นและผลโกโก้	45
18. แสดงเมล็ดโกโก้ที่บรรจุในเข่งหมัก	45
19. แสดงการกลับเมล็ดโกโก้	46
20. แสดงลักษณะสีของเมล็ดโกโก้แบบต่างๆหลังการทำ cut test	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1. ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการหมักกับค่า cut-test ของเมล็ดโกโก้ การเปลี่ยนแปลงกลิ่นรสช็อกโกแลตและการเปลี่ยนแปลงค่าดรรชนีขององค์ประกอบต่าง ๆ 16
2. ชนิดของยีสต์ที่แยกได้จากการหมักเมล็ดโกโก้ 18
3. องค์ประกอบต่าง ๆ ในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้ 21
4. การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ที่ไม่ระเหยในเมล็ดโกโก้ที่ผ่านการหมักและเมล็ดที่ไม่ผ่านการหมัก 23
5. ชนิดของกรดที่ให้กลิ่นหอมที่พบในเมล็ดโกโก้ 24
6. ปริมาณของกลิ่นรสและการย่อยสลายโปรตีนหลังจากทำการบ่มเมล็ดโกโก้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ 28
7. การเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมันในวันแรกและวันสุดท้ายของการหมักเมล็ดโกโก้ 42
8. การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นในวันแรกและวันสุดท้ายของการหมักเมล็ดโกโก้ 42
9. ค่า cut-test ของเมล็ดโกโก้แห้งที่หมักด้วยเชื้อ Saccharomyces cerevisiae 42
10. ค่าคะแนนเฉลี่ยของการประเมินผลการยอมรับโกโก้ที่ทำการหมักด้วยเชื้อ Saccharomyces cerevisiae 43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

โกโก้(*Theobroma cacao L.*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง มีเมล็ดเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง บริโภคในรูปเครื่องดื่ม และอาหารขบเคี้ยว เช่น ช็อกโกแลต โกโก้เริ่มปลูกครั้งแรกแถบอเมริกากลาง และอเมริกาใต้ ต่อมาจึงแพร่หลายไปทั่วโลก กลุ่มประเทศผู้ผลิตที่สำคัญ ได้แก่ กานา บราซิล ไนจีเรีย และมาเลเซีย

ประเทศไทยมีความต้องการผลิตภัณฑ์โกโก้สูงขึ้นทุกปี มีการนำเข้าทั้งในรูปเมล็ดโกโก้แห้งและผลิตภัณฑ์โกโก้ ผลิตภัณฑ์ที่นำเข้าได้แก่ โกโก้เพสต์ ไขมันโกโก้ โกโก้ผงชนิดไม่หวาน ช็อกโกแลต และอาหารอื่น ๆ ที่ผสมโกโก้ ขณะเดียวกันก็สามารถส่งออกเมล็ดโกโก้แห้งไปยังต่างประเทศตั้งแต่ปี พ.ศ. 2525 เป็นต้นมา ซึ่งมีปริมาณและมูลค่าการส่งออกเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ กระทั่งในปี พ.ศ. 2532 มีการส่งออกเมล็ดโกโก้แห้งสูงถึง 101.427 ตัน เป็นมูลค่า 2.569 ล้านบาท นอกจากนี้ยังส่งออกในรูปผลิตภัณฑ์โกโก้ เช่น ช็อกโกแลต ผงโกโก้ และอาหารปรุงแต่งอื่น ๆ ที่มีโกโก้ ตลาดส่งออกเมล็ดโกโก้และผลิตภัณฑ์ที่สำคัญได้แก่ มาเลเซีย ลาว สิงคโปร์ ฮ่องกง เวียดนาม (ยอดยิ่ง คงทอง, 2529)

โกโก้ได้รับการส่งเสริมและสนับสนุนจากรัฐบาล โดยมีเป้าหมายทั้งการพัฒนาการปลูกและการผลิตอย่างครบวงจร การส่งเสริมการปลูกเริ่มขึ้นเมื่อ พ.ศ. 2522 ในจังหวัดกระบี่ ชุมพร และนครศรีธรรมราช (วิทย์ สุวรรณวุธ, 2527) การปลูกนั้นทำได้ 2 ลักษณะคือ ปลูกแบบพืชเดี่ยว และปลูกเป็นพืชแซมระหว่างพืชอื่น เช่น มะพร้าว ยางพารา และปาล์มน้ำมัน โดยทั่วไปเกษตรกรนิยมปลูกเป็นพืชแซมในสวนมะพร้าวมากที่สุด

กรรมวิธีการผลิตเมล็ดแห้งนั้นมีสองขั้นตอนที่สำคัญ คือ การหมักเมล็ดโกโก้ ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในของเมล็ดโกโก้สด โดยเฉพาะสีและกลิ่นรส และขั้นตอนการอบแห้งเมล็ดโกโก้ ขั้นตอนการหมักจะเกิดการเปลี่ยนแปลงระหว่างการการหมักโดย น้ำตาลในเยื่อหุ้มเมล็ดถูกเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์ แล้วในที่สุดเปลี่ยนเป็นกรดอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ โดยกิจกรรมของยีสต์ และแบคทีเรีย มีผลให้อุณหภูมิของกองหมักสูงขึ้นและเมล็ดโกโก้สูญเสียการงอก (Quesnel, 1965) ส่วนเมล็ดโกโก้จะเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงโดยปฏิกิริยาของเอนไซม์ต่อองค์ประกอบของโปรตีน และ ไนโตรเจน มีการสร้างสารตั้งต้นของช็อกโกแลตขึ้นมา แต่กลิ่นรสช็อกโกแลตนั้นเกิดขึ้นในขั้นตอนการนำเมล็ดโกโก้ที่ได้จากการตากแห้งแล้วนำไปคั่ว ซึ่งสารให้กลิ่นรสนั้นเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกลุ่มต่าง ๆ

ในระหว่างการหมักนั้น จะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของเมล็ดโกโก้ โดยในระยะแรกเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้มีสีชมพูหรือสีขาว ต่อมาเมื่อเมล็ดเกิดการหมักจะมีสีคล้ำขึ้นและเมือกหายไป โดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนั้นเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ พร้อมกับมีการเปลี่ยนแปลงภายในเมล็ดโดยกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ

ดังที่กล่าวมาแล้ว การหมักโกโก้เป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญในการแปรรูปเมล็ดโกโก้ที่มีผลต่อคุณภาพของเมล็ดแห้ง และกลิ่นรสช็อกโกแลตในผลิตภัณฑ์สุดท้าย

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ที่ใส่เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เช่นความเป็น กรด-ด่าง ความชื้น ปริมาณไขมัน ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรดอะซิติก เปรียบเทียบกับเมล็ดโกโก้ที่หมักตามธรรมชาติ

ขอบเขตของปัญหาพิเศษ

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยเชื้อ ***Saccharomyces cerevisiae***

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.เพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุงขบวนการผลิตเมล็ดโกโก้ให้ได้เมล็ดโกโก้ที่ดีมีคุณภาพ

2.เพื่อเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้ปลูก

3.เพื่อเป็นแนวทางในการวิจัยที่เกี่ยวกับเมล็ดโกโก้ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

โกโก้เป็นพืชที่สามารถเจริญเติบโตตั้งแต่ระดับน้ำทะเล จนถึงที่สูงกว่าระดับน้ำทะเล 2,000 ฟุต ในแหล่งที่มีฝนตกสม่ำเสมอ และมีปริมาณฝนตั้งแต่ 1,500-2,000 มิลลิลิตรต่อปี ค่าความเป็นกรด ด่างของดินระหว่าง 5.5-7.0 อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 24-29 องศาเซลเซียส ต้นที่ให้ผลจะมีอายุประมาณ 5-6 เดือน ผลเป็นฝักคล้ายมะละกอ ภายในฝักมีเมล็ด 25-50 เมล็ด ขึ้นกับพันธุ์โกโก้

แหล่งปลูกโกโก้ในประเทศไทย มีปลูกกันมากแถบจังหวัดภาคใต้ตั้งแต่ชุมพรจนถึงยะลา นอกจากนี้มีปลูกแถบฝั่งตะวันออกของอ่าวไทย เช่น ชลบุรี จันทบุรี และทางภาคตะวันตก เช่น สมุทรสงคราม สมุทรสาคร กลุ่มประเทศผู้ผลิตที่สำคัญ ได้แก่ ไอเวอรีโคส กานา บราซิล ไนจีเรีย และมาเลเซีย ผลผลิตของประเทศต่างๆ แสดงในตารางภาคผนวกที่ ก โกโก้เป็นพืชที่เกษตรกรผู้ปลูกจำหน่ายในรูปเมล็ดแห้งเป็นส่วนใหญ่ ตลาดรับซื้อจะนำเมล็ดโกโก้แห้งส่งโรงงาน แปรรูปออกมาในรูปโกโก้ผง โกโก้เหลว และช็อกโกแลต โรงงานอุตสาหกรรมอาหารจะนำผลิตภัณฑ์ที่กล่าวมาแล้ว มาผสมเป็นอาหารต่าง ๆ เช่น ทำเป็นเครื่องดื่มเสริมให้ร่างกายเจริญเติบโต ทำช็อกโกแลต ลูกอม ลูกกวาด เพิ่มกลิ่นและรสชาติของอาหารจำพวกเค้ก คุกกี้ และใช้ในอุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมบุหรี่ นอกจากนี้ยังใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง เช่น น้ำหอม ลิปสติก (ผานิต งานกรณาธิการ และ วิทย์ สุวรรณวุธ, 2531)

1.พันธุ์โกโก้ แบ่งออกเป็น 3 สายพันธุ์ (ผานิต งานกรณาธิการ, 2532; Wood, 1975) คือ

1.1 สายพันธุ์คริออลโล (Criollo) ลักษณะมีสีแดงหรือสีเขียว เมื่อสุกจะเปลี่ยนเป็นเหลือง หรือส้ม เปลือกบาง ผิวขรุขระ ก้นแหลม ผลยาว เมล็ดใหญ่มีสีขาวหรือม่วงอ่อน สายพันธุ์นี้จะให้กลิ่นและรสชาติดี ซึ่งเหมาะกับการทำช็อกโกแลต แต่เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตต่ำและไม่ต้านทานต่อโรคและแมลง จึงไม่ค่อยนิยมปลูก

1.2 สายพันธุ์ฟอราสเตอโร (Forastero) มี 2 กลุ่มที่สำคัญ คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.1 เวสท์อัฟริกันอะมิโลนาโด (West African Amelonado) ผลสีเขียวยาว เมื่อสุกจะมีสีเหลือง เปลือกหนา ก้นมน เมล็ดแบนกว่าพันธุ์ครีออลโล สีแดงเข้มหรือม่วงเข้ม ผลผลิตสูง ต้นที่ปลูกด้วยเมล็ดจากพันธุ์นี้ มักจะไม่กลายพันธุ์ เพราะผสมตัวเองได้ แต่จะไม่ทนทานต่อโรคใบแห้งและกิ่งแห้ง

1.2.2 อัปเปอร์อเมซอน (Upper Amazon) ผลมีลักษณะสีเขียว เมื่อสุกมีสีเหลือง ขนาดของผลใกล้เคียงกับพันธุ์เวสท์อัฟริกันอะมิโลนาโด แต่มีขนาดเล็กกว่า เมล็ดมีสีม่วงเข้ม ผลผลิตสูง ต้นแข็งแรงเจริญเติบโตดี ทนทานต่อการรบกวนของโรคและแมลงบางชนิด เมื่อปลูกจากเมล็ดจะไม่ตรงตามพันธุ์

1.3 สายพันธุ์ตรินิตาริโอ (Trinitario) ลักษณะผลค่อนข้างใหญ่ ก้นแหลม เมล็ดมีขนาดใหญ่ แต่ผลผลิตต่ำกว่าพันธุ์เวสท์อัฟริกันอะมิโลนาโด นิยมปลูกด้วยการติดตาหรือปักชำ

2. ความเหมาะสมในการปลูกโกโก้ในประเทศไทย

2.1 ความเหมาะสมด้านการผลิต จากการศึกษาสภาพดินฟ้าอากาศของประเทศที่เป็นแหล่งผลิตโกโก้แหล่งใหญ่ของโลก พบว่าประเทศเหล่านี้อยู่ในเขตร้อนและชุ่มชื้น ซึ่งต้นโกโก้จะเจริญได้ดี และมีอุณหภูมิเฉลี่ย 18-32 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 1,600-2,000 มิลลิลิตร การกระจายของน้ำฝนดีพอสมควร โกโก้ไม่ต้องการลมแรงและแดดจัด จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่า สภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการปลูกโกโก้ของประเทศไทย อยู่ในภาคใต้และภาคกลางบางจังหวัด เช่น สมุทรสงคราม สมุทรสาคร เป็นต้น

จากการทดลองปลูกโกโก้แซมในสวนมะพร้าวในประเทศมาเลเซีย ซึ่งมีลักษณะดินฟ้าอากาศใกล้เคียงกับภาคใต้ของประเทศไทย พบว่าเกษตรกรจะมีรายได้จากโกโก้สูงเป็น 2-3 เท่าของรายได้จากมะพร้าว นอกจากนี้จากการศึกษาโดยกรมส่งเสริมการเกษตร พบว่าโดยทั่วไปแล้วเกษตรกรที่ให้ความสนใจ เอาใจใส่ดูแลรักษา ตลอดจนลักษณะดิน สภาพสวนมะพร้าวที่สามารถให้ร่มเงาแก่โกโก้ ทำให้ผลผลิตโกโก้สูงขึ้น แต่มีบางรายที่ไม่ประสบผลสำเร็จ เนื่องจากขาดการดูแลเอาใจใส่ สภาพดินไม่เหมาะสม และในบางปีขาดน้ำ เนื่องจากฤดูแล้งนานเกินไป

จะเห็นได้ว่าประเทศไทยมีความเหมาะสมในการผลิต ถึงแม้ลักษณะดินบางแห่งจะไม่เหมาะสมต่อการปลูกโกโก้ ดังนั้นเกษตรกรที่มีสวนมะพร้าวในแต่ละจังหวัด หรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่ละแห่งที่จะทำการปลูกโกโก้เป็นพืชแซม ควรจะได้ตรวจสอบความเหมาะสมของดินด้วย

2.2 ความเหมาะสมด้านการตลาด ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่ทำจากโกโก้แท้ ๆ มักมีราคาค่อนข้างสูง ทำให้คนมีรายได้น้อยไม่ค่อยซื้อมาบริโภคมากนัก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากผลิตภัณฑ์โกโก้ชนิดต่างๆต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ ดังนั้นถ้าสามารถผลิตได้ภายในประเทศแล้ว ความต้องการบริโภคจะสูงขึ้นกว่าในปัจจุบัน ทั้งนี้เนื่องมาจากราคาโกโก้ที่ผลิตได้เอง จะต่ำกว่าที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ

สำหรับความต้องการของโรงงาน จะมีความต้องการวัตถุดิบ คือเมล็ดโกโก้แห้งประมาณ 9,126 ตัน/ปี จะคิดเป็นเนื้อที่เพาะปลูกประมาณ 138,273 ไร่ แต่ปัจจุบันปลูกไปแล้วประมาณ 10,945 ไร่ ซึ่งยังไม่เพียงพอกับความต้องการของโรงงาน การปลูกโกโก้มีความเหมาะสมเป็นอย่างยิ่ง เพราะนอกจากผลิตให้เพียงพอกับความต้องการใช้ภายในประเทศ หรือผลิตเพื่อทดแทนการนำเข้าแล้ว ส่วนที่เกินความต้องการก็ส่งออกนำรายได้เข้าประเทศอีกด้วย

2.3 ความเหมาะสมในด้านเศรษฐกิจและสังคม สวนมะพร้าวในปัจจุบันมีสภาพเสื่อมโทรม เนื่องจากขาดการดูแลรักษาทำให้ผลผลิตมะพร้าวน้อยลง นอกจากนี้ยังพบปัญหาด้านการตลาด ทำให้เกษตรกรมีรายได้ไม่แน่นอน การปลูกโกโก้เป็นพืชแซมในสวนมะพร้าว สามารถช่วยแก้ปัญหาในเรื่องผลผลิตและเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรที่ปลูกมะพร้าว ทั้งยังสามารถใช้พื้นที่เพาะปลูกให้คุ้มค่า

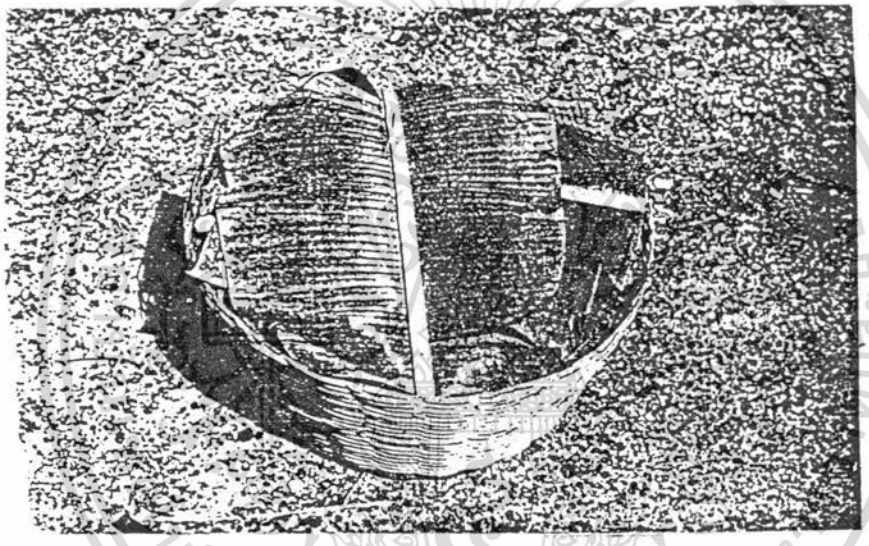
3. การหมักเมล็ดโกโก้

หลังจากเก็บเกี่ยวผลโกโก้ที่สุกจากต้นมากองไว้แล้ว จะเปิดฝักเพื่อแกะเอาเมล็ดโกโก้ออกมา โดยอาจทำในแปลงหรือนำผลโกโก้มาแกะที่โรงหมักก็ได้ จากนั้นนำเมล็ดโกโก้ใส่ในภาชนะสำหรับหมัก โดยใช้เข่ง ลังไม้ หรือกองบนพื้น มีการกลับเมล็ดเพื่อให้อากาศทำให้การหมักเกิดขึ้นสม่ำเสมอ (Rohan, 1963). Hancock (1949) พบว่าระยะเวลาระหว่างการเก็บเกี่ยวจนถึงการเปิดฝักเพื่อแกะเอาเมล็ดโกโก้ มีอิทธิพลต่อการหมักมาก เพราะระยะเวลา 4-5 วันที่เก็บฝักโกโก้ไว้จะมีผลทำให้อุณหภูมิของกองหมักระหว่างการหมักสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว การหมักเมล็ดโกโก้มีวิธีการหมักต่าง ๆ กันดังนี้

3.1 การหมักในเข่ง (Basket Fermentation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักในเข่งเป็นวิธีที่นิยมกันมากในหมู่เกษตรกรผู้ปลูกโกโก้รายย่อย โดยเฉพาะในประเทศมาเลเซีย วิธีทำคือ นำเมล็ดโกโก้สดใส่ลงในเข่ง ซึ่งบรรจุได้ประมาณ 25-30 กิโลกรัม รองรอบเข่งด้วยใบตองสด และปิดคลุมด้วยใบตองสด 2-3 ชั้น นำเข่งตากแดดไว้ 2 วัน แล้วถ่ายเมล็ดโกโก้ลงเข่งใหม่ คลุมด้วยใบตอง เมื่อครบ 2 วันถ่ายเมล็ดลงในเข่งใบแรก และทิ้งไว้อีก 2 วัน เมื่อครบ 7 วัน ก็นำเมล็ดโกโก้ออกจากเข่งนำไปตากแดด (Wood and Lass, 1985) ดังแสดงในรูปที่ 1 สำหรับเกษตรกรในประเทศไทย นิยมหมักโดยนำเมล็ดโกโก้หมักในเข่งซึ่งกรุใบตอง เป็นเวลา 7 วัน มีการกลับเมล็ดทุก 2 วัน และตากแห้งด้วยแสงแดด (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก และคณะ, 2534)



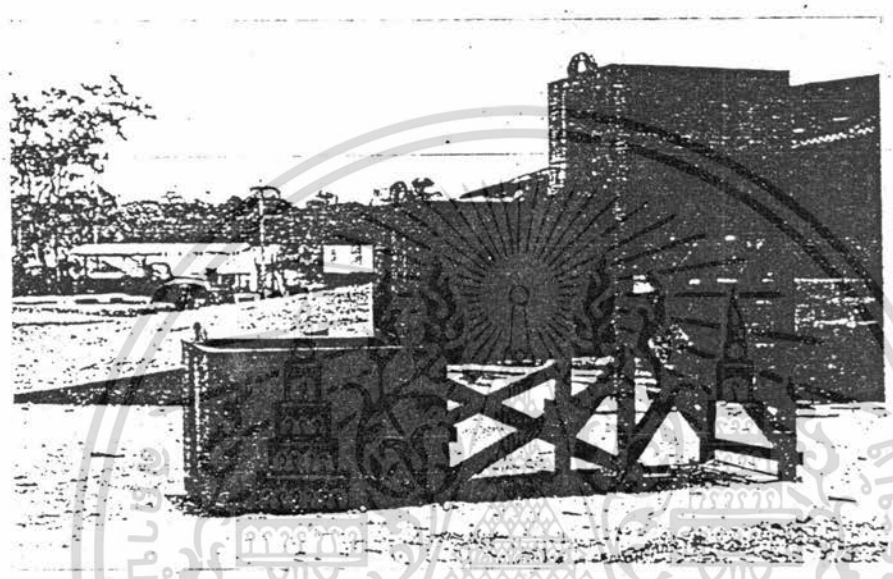
รูปที่ 1 การหมักในเข่ง
ที่มา : Rohan (1963)

3.2 <u>การหมักในลังไม้</u> (Box Fermentation)

ลังไม้ที่ใช้หมักมีหลายขนาดเช่นเกษตรกรชาวสวนขนาดย่อยในประเทศมาเลเซียใช้ลังไม้ขนาด 1x1x1 ฟุต บรรจุเมล็ดโกโก้สด 25 กิโลกรัม หรือลังไม้ขนาด 1.5x2x1 ฟุต บรรจุโกโก้ได้ 50 กิโลกรัม ประเทศผู้ผลิตโกโก้รายใหญ่ที่มีปริมาณมากมักจะหมักโดยใช้ลังไม้ซึ่งด้านบนปิดด้วยใบตองหรือกระสอบ โดยด้านล่างหรือด้านข้างของลังไม้จะมีช่องขนาดพอเหมาะสำหรับให้ของเหลวที่เกิดขึ้นระหว่างขบวนการหมักไหลออกมาได้ ทำการหมัก 6 วัน โดยมีการพลิกกลับเมล็ดทุกวัน หรือทุก 2 วัน (Wood and Lass, 1985) ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก และคณะ (2534) ทำการหมักเมล็ดโกโก้โดยใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลังไม้ขนาด 1x1x1 ฟุต มีลักษณะกล่องคู่บรรจุเมล็ดโกโก้ได้ 25 กิโลกรัม ด้านบนปิดด้วยใบตอง ด้านล่างและด้านข้างของลังไม้จะมีช่องขนาดพอเหมาะสำหรับให้ของเหลวที่เกิดขึ้นระหว่างขบวนการหมักไหลออกได้ ทำการกลับเมล็ดในวันที่สองของการหมักและใช้เวลาหมัก 4 วัน ดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 การหมักในลังไม้

ที่มา : Rohan (1963)

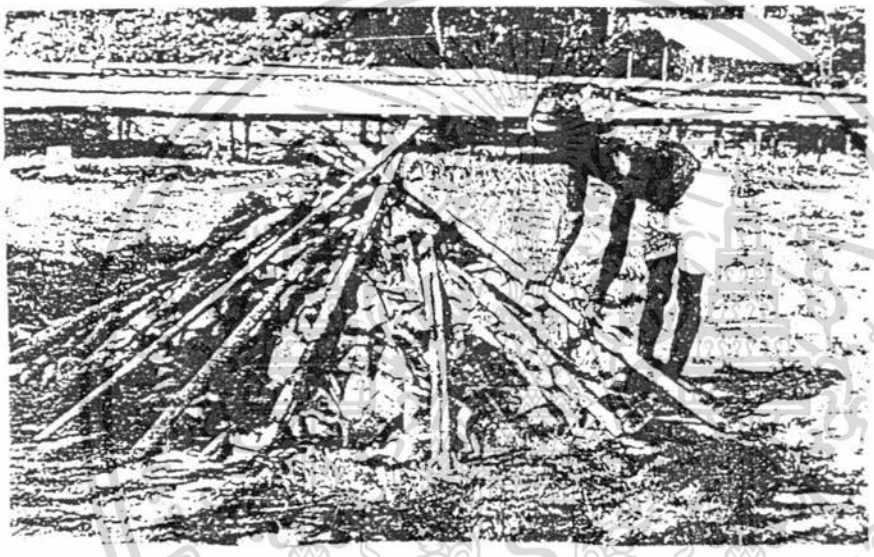
3.3 การหมักเป็นกองสูงบนพื้น (Heap Fermentation)

วิธีการคือ นำเมล็ดโกโก้สดอย่างน้อยประมาณ 450 กิโลกรัม โดยนำมากองไว้บนใบตองสดซึ่งปูไว้และมีท่อนไม้ยาว ๆ รองไว้ข้างล่าง เพื่อให้ของเหลวไหลออกมาระหว่างการหมัก แล้วนำใบตองสดมาคลุมทับกองเมล็ดโกโก้สดอีกครั้ง ทั้งนี้เพื่อให้อุณหภูมิของเมล็ดโกโก้ที่หมักสูงขึ้น กองโกโก้ควรมีความสูงประมาณ 60-90 เซนติเมตร ทำการกลับเมล็ดทุกสองวัน โดยการคลุกเมล็ดกลับไปมาให้เข้ากัน และหมักนาน 6 วัน ดังแสดงในรูปที่ 3 แล้วจึงนำไปตากแดดให้แห้ง (Wood and Lass, 1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 <u>การหมักในกระบะหรือถาดไม้</u> (Tray Fermentation)

การหมักเมล็ดโกโก้โดยวิธีนี้เหมาะสมกับโกโก้ที่มีปริมาณน้อย โดยมีหลายขนาด เช่น ในประเทศแอฟริกามีขนาด 91x60x10 เซนติเมตร โกโก้ที่ใช้หมักจะต้องใช้อย่างน้อย 8-12 ถาดและวางซ้อนทับกันเพื่อให้มีความร้อนเพียงพอ ถาดบนสุดปิดทับด้วยใบตอง หรือชั้นของถาดทั้งหมดคลุมด้วยกระสอบ ไม่จำเป็นต้องมีการกลับเมล็ดและกระบวนการหมักจะสิ้นสุดใน 4 วัน ดังแสดงในรูปที่ 4



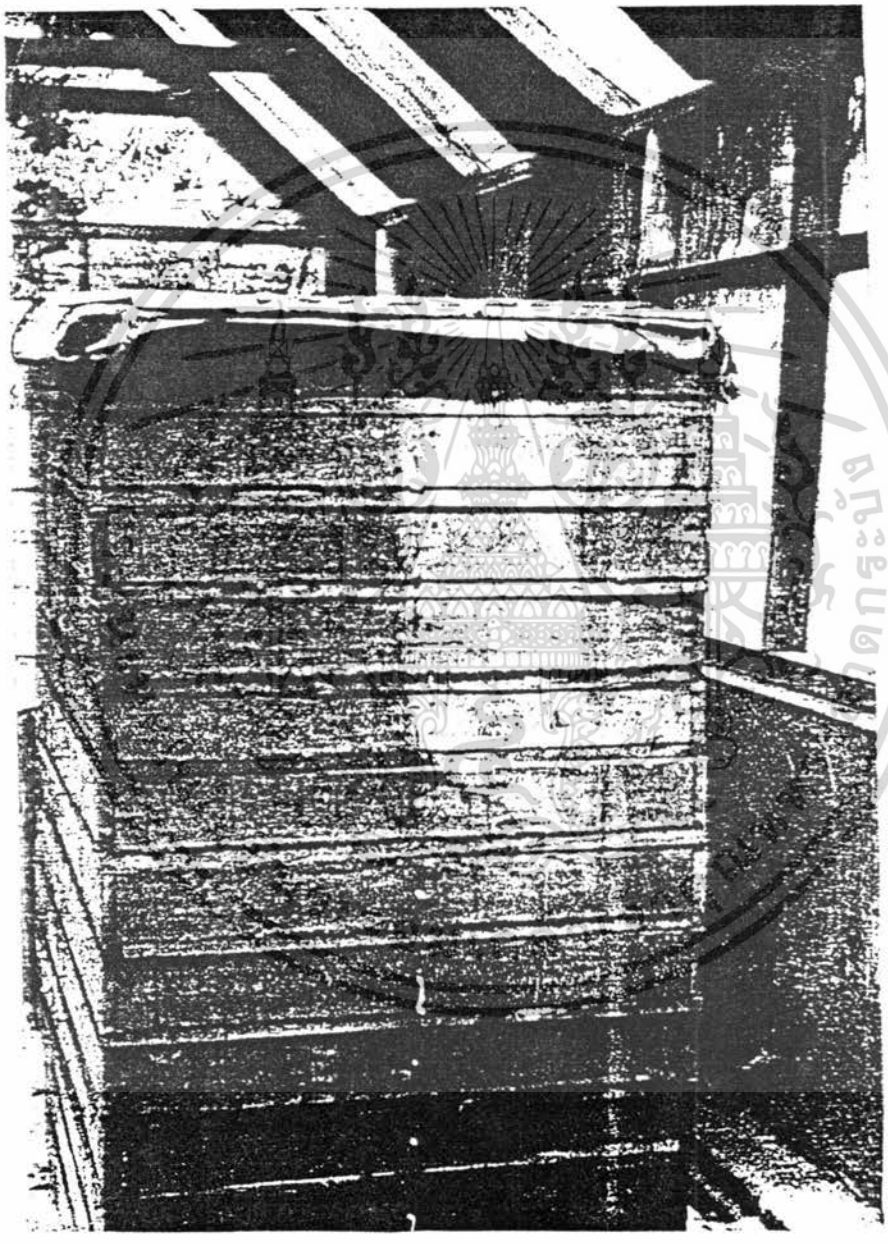
รูปที่ 3 การหมักเป็นกองสูงบนพื้น
ที่มา : Rohan (1963)

4. <u>ปัจจัยที่มีผลต่อการหมัก</u>

4.1 <u>ระยะเวลาในการหมัก</u> เวลาในการหมักโกโก้อยู่ในช่วง 2-12 วัน ซึ่งเวลาที่แตกต่างกันนี้ขึ้นอยู่กับ ฤดูกาล สถานที่ ปริมาณของโกโก้ กรรมวิธีในการหมัก และพันธุ์ของโกโก้ (Roelofsen, 1958; Rohan, 1963) เช่นพันธุ์ครีออลโลใช้เวลาในการหมัก 2-3 วัน พันธุ์ฟอราสเตอโรใช้เวลา 6-8 วัน เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Forsyth and Quesnel (1957) ได้มีหลักเกณฑ์ในการพิจารณาถึงการสิ้นสุดการหมัก คือ การใช้ตารางเวลากำหนด การผ่าดูสีเมล็ดที่ได้จากการหมัก การสังเกตุการเปลี่ยนแปลงสีภายนอกของเมล็ด การลดลงของอุณหภูมิของกองหมัก Wood and Lass (1985) พบว่าหากหมักโกโก้นานเกินไปทำให้แบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายโปรตีนในสภาพ



รูปที่ 4 การหมักในถาดไม้

ที่มา : Rohan (1963)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไร้อากาศเจริญได้ มีผลให้เกิดกลิ่นรสของช็อกโกแลตน้อยลง แต่หากระยะเวลาการหมักสั้นเกินไปเมล็ดโกโก้ที่ได้มีสีม่วง และมีรสฝาดหรือขม

4.2 ขนาดของกองหมักและปริมาณของเมล็ดโกโก้ที่ใช้หมัก ปริมาณโกโก้ที่ใช้หมักมีผลต่ออัตราการให้อากาศแก่กองหมัก หากกองหมักมีขนาดใหญ่บริเวณผิวหน้าของกองหมักมีการถ่ายเทอากาศดีกว่า เป็นผลให้อุณหภูมิบริเวณผิวของกองหมักเพิ่มขึ้นเร็วกว่าบริเวณในกองหมัก ถ้ากองหมักมีขนาดเล็กมากทำให้อากาศสามารถแพร่เข้าสู่กองหมักได้ดีกว่า ความร้อนที่เกิดขึ้นจากการเพิ่มกิจกรรมของจุลินทรีย์จะแพร่ออกจากกองหมักได้ง่าย (Lehrian and Patterson, 1983) การหมักเมล็ดโกโก้ปริมาณน้อย ๆ มีผลทำให้สูญเสียปริมาณความร้อนได้เร็วกว่าปกติ แนวทางหนึ่งในการหมักปริมาณน้อยๆ ให้ได้ผลดี คือการกลับกองหมักให้น้อยครั้งและควรทำฉนวนหุ้มภาชนะหมักเพื่อลดการสูญเสียความร้อน (ประพันธ์ บุญกลิ่นขจร และคณะ, 2529) Rohan (1963) กล่าวว่าการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยกล่องหมัก ความลึกของกองหมักไม่ควรเกิน 90 เซนติเมตร หากลึกมากไปทำให้บริเวณกลางกองหมักไม่เกิดการหมักขึ้นหรือเกิดขึ้นได้น้อย การเพิ่มขึ้นของความร้อนในกองหมักนั้นพบว่าการเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆจะ ให้เมล็ดแห้งที่มีกลิ่นรสช็อกโกแลตที่ดีกว่าการที่ความร้อนของกองหมักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Biehl และคณะ, 1985)

4.3 การกลับกองหมักหรือการคนเมล็ดโกโก้ที่หมัก การกลับกองหมักเป็นวิธีการผสมเมล็ดโกโก้ให้สัมผัสกับอากาศ และช่วยให้อากาศแพร่เข้าสู่ภายในกองหมักได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนั้นยังทำให้กองหมักผสมเป็นเนื้อเดียวกันป้องกันการจับตัวเป็นก้อนของเมล็ดโกโก้และป้องกันการเกิดเชื้อราบริเวณผิวหรือมุมอับของกองหมัก วิธีการกลับกองหมักและช่วงเวลาในการกลับกองหมักนั้นแตกต่างกันไปขึ้นกับวิธีการหมักเมล็ดโกโก้ ระยะเวลาในการกลับกองหมักนั้นอาจเป็นทุก ๆ 1 วัน 2 วัน หรือ 4 วัน การกลับกองเมล็ดโกโก้ในช่วงแรกของการหมักเป็นการให้อากาศแก่กองหมัก ช่วยให้มีการสร้างเอทานอลและยับยั้งการสร้างกรดแลคติกได้ (Lehrian and Patterson, 1983)

Dougan และคณะ (1981) ศึกษาการกลับกองหมักต่อการให้ออกซิเจน โดยการวัดปริมาณออกซิเจนในกองหมัก ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การกลับกองหมักในช่วง 3 วันแรกของการหมัก มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของออกซิเจนในกองหมัก คือ ปริมาณออกซิเจนเพิ่มขึ้นหลังจากมีการกลับกองหมักในครั้งแรกแต่ลดลงเมื่อมีการกลับกองหมักในครั้งที่สอง การกลับกองหมักทุกวันยังทำให้อุณหภูมิของกองหมักลดลงอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งทำให้อัตราการเกิดเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ต่ำลง และทำให้กรดอะซิติกในเมล็ดโกโก้แห้งเพิ่มขึ้น

4.4 การเก็บรักษาฝักโกโก้ก่อนการหมัก การเก็บฝักโกโก้ไว้ก่อนการหมักมีผลต่อการหมักคือเมื่อนำเมล็ดโกโก้ไปทำการหมักทำให้อุณหภูมิของกองหมักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Hancock, 1949; Rohan, 1963; Wood and lass, 1985) เพราะการเก็บฝักโกโก้ทำให้มีการสูญเสียความชื้น ช่วยให้อากาศแพร่เข้าไปภายในกองหมักได้ง่ายขึ้น ทั้งยังช่วยลดปริมาณน้ำและของแข็งในเมล็ดโกโก้ลง ซึ่งเป็นผลของการระเหย และกระบวนการออกซิเดชั่นของน้ำตาลกลูโคส (Biehl et al., 1989) Dougan (1980) พบว่าการเก็บโกโก้ไว้ก่อนการหมัก ทำให้การสร้างกรดและการแพร่ของกรดเข้าไปในเมล็ดโกโก้เพิ่มอย่างรวดเร็ว ปริมาณกรดอะซีติกในเมล็ดโกโก้แห้งที่ได้จากผลโกโก้ทั้งที่ผ่านการเก็บฝักไว้ 1 สัปดาห์ และไม่ผ่านการเก็บฝักไว้มีค่าไม่ต่างกัน แต่ว่าปริมาณกรดแลคติกในเมล็ดโกโก้ที่ผ่านการเก็บฝักโกโก้ไว้ก่อนทำการหมัก 1 สัปดาห์ มีค่าสูงกว่าเมล็ดโกโก้ที่ไม่ได้เก็บฝักไว้ก่อนการหมัก นอกจากนี้ยังพบว่าฝักโกโก้ที่เก็บไว้ก่อนการหมักเป็นเวลา 2-4 วัน ให้สัดส่วนเมล็ดสีม่วง และเมล็ดที่มีรอยย่นต่ำกว่าเมล็ดโกโก้ที่เก็บไว้วันเดียว

Biehl และคณะ (1989) กล่าวว่าการเก็บฝักโกโก้ไว้ก่อนทำการหมักเป็นสาเหตุให้เกิดการสูญเสียน้ำตาลซูโครสจากปฏิกิริยาอินเวอชั่นได้สูงถึงร้อยละ 25 ของน้ำตาลซูโครสในเมล็ด ทั้งยังมีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ เป็นผลให้เมล็ดแห้งลง แต่มีรายงานของนักวิจัยหลายท่านกล่าวว่าคุณภาพของเมล็ดโกโก้ที่ได้จากการเก็บฝักโกโก้ไว้ก่อนการหมัก และเมล็ดโกโก้ที่ไม่ผ่านการเก็บฝักไว้ก่อนนั้นไม่มีความแตกต่างกัน (Chong et al., 1978)

การเก็บฝักโกโก้ไว้ก่อนทำการหมักทำให้ความชื้นในเนื้อเยื่อโกโก้ลดลงมีผลให้เวลาในการหมักสั้นลง และยังเป็นการรวบรวมผลโกโก้ให้เพียงพอต่อการหมักในแต่ละครั้งอีกด้วย (Lehrian and Patterson, 1983) ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก และคณะ (2534) ได้ทดลองเปรียบเทียบกรรมวิธีการหมัก การบ่มฝักโกโก้ก่อนการหมัก และความถี่ในการกลับเมล็ดโกโก้ขณะหมัก พบว่าการเก็บโกโก้ไว้ก่อนทำการหมักช่วยลดเวลาในการหมักแบบใช้กล่องจากเวลา 6 วัน เหลือเพียง 4 วัน โดยให้ค่าดรรชนีการหมักสูงเป็น 1.0-1.1 มีกรดแลคติก กรดที่ระเหยได้ และกรดทั้งหมดต่ำกว่าชุดการทดลองควบคุม ส่วนความถี่ในการในการกลับเมล็ดโกโก้ พบว่าเมล็ดโกโก้แห้งที่ได้จากชุดการทดลองที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีการกลับเมล็ดทุก 2 วัน มีคุณภาพดีกว่าของชุดการทดลองที่กลับเมล็ดโกโก้ในวันที่ 2 และ 3 ของการหมัก

4.5 ความสุกของฝักโกโก้ ความสุกของฝักโกโก้มีผลต่อการหมักเมล็ดโกโก้ โดยพบว่าถ้ามีฝักโกโก้ไม่สุกจะทำให้ขบวนการหมักไม่สมบูรณ์ อุณหภูมิจะไม่สูงขึ้น (Knapp, 1926)

4.6 ความแตกต่างของอัตราส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ดต่อเมล็ด อัตราส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ดจะเปลี่ยนแปลงตามพันธุ์ของโกโก้และสภาพในการเจริญเติบโต พบว่าโกโก้พันธุ์อะมิโลนาโดในประเทศกานามีอัตราส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ดต่อเมล็ดโกโก้เท่ากับ 0.75 ขณะที่พันธุ์อัปเปอร์อเมซอนในประเทศมาเลเซียและกานามีอัตราส่วนเป็น 1.12 และ 1.16 ตามลำดับ ถ้าปริมาณร้อยละของเยื่อหุ้มเมล็ดต่อเมล็ดสูงปริมาณน้ำตาลจะเพิ่มขึ้น เป็นผลทำให้ปริมาณกรดในเมล็ดมากขึ้น เมื่อสิ้นสุดขบวนการหมัก (Carr et al., 1981)

5. การทำแห้ง

โกโก้จะต้องผ่านการทำแห้ง เพื่อลดปริมาณความชื้นซึ่งอาจทำโดย วิธีการตากแดดโดยตรง (sun drying) การใช้เครื่องมือในการให้ความร้อน (Artificial drying) หรือทั้งสองวิธีรวมกัน เพื่อลดปริมาณความชื้นในเมล็ดลงทำให้สามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน ซึ่งปริมาณความชื้นหลังจากสิ้นสุดการหมักจะมีอยู่ประมาณร้อยละ 55 หลังจากการทำแห้งแล้ว เมล็ดโกโก้ควรมีความชื้นเหลือประมาณร้อยละ 6-7 นอกจากนี้การทำแห้งยังช่วยลดปริมาณกรดลง และยังทำให้เมล็ดโกโก้เกิดสีน้ำตาลขึ้น เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารประกอบฟีนอล พร้อมทั้งเกิดการเปลี่ยนแปลงของแอนโทไซยานิน (anthocyanins)

เมล็ดแห้งมักจะมีอายุการเก็บรักษานาน ขณะที่เมล็ดที่มีความชื้นจะเกิดความเสียหายเนื่องจากมีการเจริญของเชื้อราขึ้นและแทงทะลุเข้าไปในเปลือก ผิวสัมผัสของเมล็ดที่ผ่านการทำแห้งที่ดีจะกรอบ ไม่มีเยื่อหุ้มเมล็ดหลงเหลืออยู่ ทั้งยังมีกลิ่นรสช็อกโกแลตที่ดี ไม่มีกลิ่นกรด กลิ่นควันและกลิ่นที่ไม่ต้องการอื่น ๆ เนื่องจากความชื้นลดลง ปริมาณกรดที่ระเหยได้ซึ่งมีอยู่ในเมล็ดโกโก้ ประมาณร้อยละ 0.47-1.02 ก็จะมีปริมาณลดลงตามไปด้วย ก่อให้เกิดการออกซิเดชันของสารตั้งต้นของกลิ่นรส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช็อกโกแลต และ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดแลคติก ซึ่งหากความชื้นในเมล็ดลดลงในอัตราที่ช้าเกินไปทำให้เกิดกรดแลคติกได้ดี (Lopez and Quesnel, 1973)

การทำแห้งโดยใช้แสงแดด เป็นวิธีที่ทำให้เมล็ดโกโก้แห้งมีกลิ่นรสที่ดี และเป็นวิธีที่เกษตรกรนิยมใช้ โดยการตากแดดบนถาดไม้ กระสอบป่าน หรือวัสดุพื้นเรียบ เป็นวิธีที่ประหยัดค่าใช้จ่าย และทำได้ง่าย แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือต้องใช้เวลานาน ต้องการแรงงานสูง ถ้าจำนวนโกโก้มีปริมาณมากจะทำวิธีนี้ไม่ได้ผลดี อีกทั้งยังมีข้อจำกัดทางสภาวะอากาศ การทำแห้งโดยแสงอาทิตย์ใช้เวลาประมาณ 6 วัน ในกรณีที่มีอากาศแห้งและใช้เวลานานถึง 6 สัปดาห์ในกรณีมีอากาศชื้น ส่วนการทำแห้งโดยใช้ความร้อนจากแหล่งอื่น จะใช้ได้ดีในกรณีที่มีเมล็ดจำนวนมาก ๆ และในฤดูฝนหรือช่วงที่มีความชื้นสูง (Jinap et al., 1990)

จากการรายงานผลของการหมักและการทำแห้งของประเทศทางตะวันออกมักจะพบ กรดที่ระเหยได้ (Volatile fatty acid)สูง ในขั้นตอนการแปรรูป จะช่วยลดปริมาณกรดลงได้ เช่น ในขั้นตอนการบีบอัด การคั่ว แต่ถ้าในเมล็ดโกโก้แห้งนั้น มีปริมาณกรดเริ่มต้นสูงผลิตภัณฑ์สุดท้ายก็จะมีปริมาณกรดสูงตามไปด้วยแม้จะผ่านกระบวนการแปรรูปแล้วก็ตาม จึงได้พยายามพัฒนาการทำแห้ง ให้ได้กลิ่นรสที่ดีเช่นเดียวกับเมล็ดโกโก้ที่ได้มาจากประเทศแถบแอฟริกาตะวันตก ซึ่งจะทำแห้งโดยการใช้อากาศที่อุณหภูมิปกติ

6. <u>การตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดโกโก้แห้ง</u>

6.1 <u>การทำ Cut Test</u> เป็นการนำเมล็ดโกโก้แห้งมาทำการผ่าออก ดูลักษณะภายในของเมล็ด ซึ่งควรจะมีลักษณะดังต่อไปนี้ คือ เป็นเมล็ดที่มีผิวเต่ง ไม่เหี่ยวย่น ขนาดของเมล็ดสม่ำเสมอ แห้งสนิท สะอาดไม่มีเยื่อหุ้มเมล็ดติดอยู่ ปราศจากกลิ่น ควันไฟ หรือสิ่งอื่นใด เมล็ดไม่แตกไม่หักมากเกินไป

เมล็ดที่ได้มาตรฐานจะต้องมีลักษณะดังต่อไปนี้ (Wood and Lass, 1985)

1. ความชื้นของเมล็ดไม่ควรเกินร้อยละ 7
2. มีน้ำหนักเมล็ดโกโก้โดยเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 1 กรัมต่อเมล็ด
3. มีปริมาณเยื่อหุ้มเมล็ดไม่เกินร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก
4. สุ่มตัวอย่างเมล็ดโกโก้แห้ง 200 เมล็ด โดยนำมาผ่าตามความยาวเมื่อนับจำนวนเมล็ดจะต้องมีจำนวนเมล็ดดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เมล็ดที่เป็นเชื้อรามีไม่เกินร้อยละ 7

- เมล็ดที่มีสีเทาหรือสีหินชนวนมีไม่เกินร้อยละ 3

- เมล็ดที่ถูกแมลงเจาะทำลาย เมล็ดงอกและเมล็ดเสียหรือลีบรวมกันแล้วมีไม่เกินร้อยละ 3

- เมล็ดสีม่วงมีไม่เกินร้อยละ 2 ถึง ร้อยละ 3

- ถ้าเป็นสีม่วงหรือสีน้ำตาลบางส่วนจะมีได้ร้อยละ 40 และอย่างมากไม่เกินร้อยละ 60

5. ปริมาณไขมันโกโก้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 55

ถ้าหากว่า มีเมล็ดที่มีลักษณะดังกล่าวเกินกว่าที่กำหนดไว้ข้างต้น ถือว่าเมล็ดโกโก้นั้นไม่ได้มาตรฐาน ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการหมักกับค่า cut-test ของเมล็ดโกโก้แสดงดังตารางที่ 1

6.2 <u>การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส</u> การประเมินคุณภาพเป็นสิ่งสำคัญอย่างเห็นได้ชัดเจนในงานพัฒนาผลิตภัณฑ์ เพราะจะมีส่วนช่วยในการตัดสินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในขั้นสุดท้าย ซึ่งมีจุดมุ่งหมายเพื่อให้เกิดความแน่ใจว่าผลิตภัณฑ์อาหารนั้นมีคุณภาพตามต้องการ ซึ่งต้องเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

คุณภาพอาหารที่รู้สึกได้โดยประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะที่มองเห็นได้ ลักษณะสัมผัสได้โดยกล้ามเนื้อและลักษณะที่รู้สึกได้ด้วยกลิ่นรส การประเมินผลของอาหารโดยประสาทสัมผัส เป็นการใช้คนตัดสินใจว่าอาหารนั้น ๆ มีลักษณะคุณภาพอย่างไร เป็นที่ยอมรับหรือไม่ซึ่งต้องอาศัยประสาททั้ง 5 ของคน ได้แก่ ประสาทเกี่ยวกับการมองเห็น การได้กลิ่น การรู้รส การสัมผัส และการได้ยิน

ซึ่งการทดสอบคุณภาพของโกโก้แห้งนั้น จะทำการอบเมล็ดโกโก้แห้งก่อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกและปั่นให้ละเอียดและทำการทดสอบด้วยประสาทสัมผัสทั้ง 5 โกโก้ที่มีคุณภาพดีจะมีกลิ่นกรด กลิ่นควันและกลิ่นหืนน้อย แต่มีกลิ่นโกโก้ชัดเจน นอกจากนี้จะต้องมีรสเปรี้ยว รสฝาดน้อย แต่จะมีรสโกโก้ที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาการหมักกับค่า cut-test ของเมล็ดโกโก้ การเปลี่ยนแปลงกลิ่นรสช็อกโกแลต และการเปลี่ยนแปลงค่าดรรชนีขององค์ประกอบต่าง ๆ

เวลาการหมัก	เมล็ดโกโก้แห้ง (100เมล็ด)			กลิ่นรสช็อกโกแลต	ค่าดรรชนีองค์ประกอบต่าง ๆ		
(วัน)	น้ำตาล	ม่วง	หินชนวน		Nitrogen	Catechin	Carbohydrate
0	-	94	6	ไม่มีกลิ่นโกโก้ มีกลิ่นถั่ว รสฝาด	30	1.70	0.245
2	-	80	20	ไม่มีกลิ่นโกโก้ ฉุนกรด รสฝาด	35	0.81	0.262
4	42	54	4	มีกลิ่นโกโก้อ่อน ขม ฝาด	50	0.81	0.915
6	-	-	-	-	40	0.50	1.470
6:	88	10	2	กลิ่นโกโก้แรง ขม มีกรดต่ำ	33	0.23	1.660

ที่มา : ดัดแปลงจาก Hoskin และคณะ (1984)

6: = เมล็ดโกโก้ที่ผ่านการทำแห้งด้วยแสงแดดแล้ว

- = ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

7. การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้

โดยปกติแล้วเมล็ด และเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้ จะอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ จุลินทรีย์ที่พบ จะได้รับมาจากสิ่งแวดล้อม หลังจากเมล็ดถูกแกะออกจากฝัก จุลินทรีย์ที่แยกได้จากกองหมักมีพวก Enterobacteriaceae , Lactobacillaceae, Bacillaceae , Pseudomonadaceae, Micrococcaceae , Corynebacteriaceae ,Propionibacteriaceae , Actinomycetaceae , Azotobacteriaceae และ Brevibacteriaceae (Ostovar and Keeney, 1973) จุลินทรีย์พวกนี้แยกได้จากผิวของฝัก มือของคนงาน และมีดที่ใช้ โดยพบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

Bacillus cereus จากแหล่งเหล่านี้ ขณะที่พบ *Micrococcus luteus* จำนวนมากจากผิวของฝัก ส่วน *Escherichia coli* , *Aerobacter aerogines, B. megaterium* และยีสต์จะพบจากมือของคนงาน โดยพบว่าจุลินทรีย์เริ่มต้นในการหมักโกโก้ มีประมาณ $2.3x10^3$ เซลต่อกรัม นอกจากนี้ยังพบว่า จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญต่อการหมัก คือ ยีสต์ แบคทีเรียแลคติก และแบคทีเรียอะซิติก

7.1 ยีสต์

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่จะพบได้มากในช่วง 48 ชั่วโมงแรกของการหมัก โดยในกระบวนการหมัก ยีสต์จะใช้น้ำตาลในเยื่อหุ้มเมล็ด ให้ผลิตภัณฑ์ คือ เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยจะหมักในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนในช่วง 2 วันแรกของการหมัก (Quesnel, 1965; Ostovar and Keeney, 1973) . ยีสต์จะสร้างเอนไซม์ย่อยสลายเพคตินออกมาย่อยเยื่อหุ้มเมล็ดทำให้เยื่อหุ้มเมล็ดสลายกลายเป็นของเหลวเมื่อของเหลวไหลออกไปแล้ว จะทำให้สภาวะในการหมักกลายเป็นสภาวะที่มีออกซิเจน ทำให้แบคทีเรียพวกอะซิติกเจริญแทนที่ยีสต์

ยีสต์ที่เจริญในการหมักเมล็ดโกโก้มีหลายกลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 2 โดยแต่ละกลุ่มจะเจริญในสภาวะที่เหมาะสมต่างกัน เช่น *Saccharomyces spp.* เจริญได้ดีเมื่อน้ำตาลในเยื่อหุ้มเมล็ดสูง มีออกซิเจนต่ำ ขณะที่ *Candida krusei* เจริญได้ดีในสภาพที่มีอากาศ ใช้เอทานอลเป็นแหล่งคาร์บอนได้ (Lehrian and Patterson , 1983) นิยม กำลังดี (2537) ศึกษาบทบาทของยีสต์ในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ โดยใช้ยีสต์ 3 ชนิด คือ *Saccharomyces cerevisiae, Candida sorbosa* และ *C. sake* เติมเป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมักเมล็ดโกโก้เป็นเวลา 7 วัน ที่ 37 องศาเซลเซียส พบว่า *S. cerevisiae* มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการหมักเมล็ดโกโก้มากที่สุด คือสามารถเจริญในกองหมักได้เร็ว ให้ปริมาณเซลล์สูงสุด ในวันแรกของการหมักเป็น 3.2×10^9 CFU ต่อกรัมเมล็ดโกโก้ ย่อยสลายน้ำตาลในเยื่อหุ้มเมล็ดได้ดี เมล็ดโกโก้ที่ได้มีค่าดรรชนีการหมักสูง มีปริมาณกรดแลคติกสูง กรดซิตริก และกรดอะซิติกต่ำ เมื่อนำเมล็ดโกโก้แห้งที่ได้ไปหาค่า Cut Test ชุดการทดลองที่เติม *S. cerevisiae* ให้เมล็ดโกโก้แห้งสีน้ำตาลสูงที่สุดเป็นร้อยละ 77.78 การลดลงของยีสต์ภายหลังการหมัก 2 วัน เนื่องจากเมื่อปริมาณของยีสต์เพิ่มขึ้นมีการใช้สารอาหารในส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้อย่างรวดเร็ว ทั้งจากการลดลงของค่าพีเอช และอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้น เป็นปัจจัยสำคัญในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25410

ตาราง2 ชนิดของยีสต์ที่แยกได้จากการหมักเมล็ดโกโก้

ยีสต์ที่พบ	เอกสารอ้างอิง
Candida sp.	(1),(2)
C. catenulata	(6)
C. krusei	(2),(6),(7)
C. mycoderma	(2)
C. parapsilosis	(2)
C. sake	(7)
C. sorbosa	(7)
C. tropicalis	(7)
Saccharomyces sp.	(2),(6)
S. cerevisiae	(2),(7)
S. carlsbergensis	(2),(7)
Pichia sp.	(1)
P. farinosa	(6)
P. fermentans	(2),(5),(6)
S. rosei	(5)
S. chevalieri	(3)
Trichosporon cutaneum	(5)
T. pullulans	(6)
T. rosei	(6)
T. holmii	(3)
T. castellii	(3)
T. candida	(3),(4)

ที่มา : (1) Carr et al. (1979,1980) (2) De Camargo et al. (1963)
(3) Gauthie et al. (1977) (4) Maravalhas (1966)
(5) Ravelomanana (1986) (6) Rombouts (1952)
(7) ดวงใจ ช่วยสถิตย์ (2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.2 แบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติกจะพบได้ตลอดการหมัก และช่วง 48 ชั่วโมงแรกจะพบแบคทีเรียแลคติกมากกว่ายีสต์ เนื่องมาจากกองหมักมีสภาพไร้อากาศ มีออกซิเจนไม่เพียงพอต่อการเพิ่มจำนวนของยีสต์ โดยแบคทีเรียแลคติกมีทั้งพวก homolactic acid bacteria ซึ่งใช้ กลูโคสผ่าน Embden-Meyerhof Pathway ให้กรดแลคติกมากกว่าร้อยละ 85 และ heterolactic acid bacteria ที่ใช้กลูโคสผ่าน hexose monophosphate pathway ให้กรดแลคติกประมาณร้อยละ 50 นอกนั้นเป็น เอทานอล กรดอะซิติก กลีเซอรอล แมนนิทอลและคาร์บอนไดออกไซด์ (Passos et al., 1984) พวก homolactic acid bacteria จะสลายคาร์โบไฮเดรต ให้ กรดแลคติก ทำให้เมล็ดมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น ส่วน heterolactic acid bacteria จะผลิตกรดอะซิติก ซึ่งช่วยเพิ่มความเป็นกรดของเมล็ดเช่นกัน (Passos et al., 1984) แบคทีเรียแลคติกที่พบใน 24 ชั่วโมงแรก คือ *Lactobacillus fermenti, L. plantarum, Leuconostoc mesenteroides* และ *Streptococcus lactis* (Ostovar and Keeney, 1973) และเป็นที่สังเกตุว่าจะพบ Lactobacillaceae จำนวนมากในช่วงเริ่มต้น และพบ Streptococcaceae ในช่วงสุดท้ายของการหมัก(Passos et al., 1984)

7.3 แบคทีเรียอะซิติก

จากการศึกษา พบแบคทีเรียอะซิติกจำนวนน้อย ในช่วง 2 วันแรกของการหมัก โดยพบเพียง *Acetobacter roseus, A. aceti, A. suboxydans* และ *Gluconobacter oxydans* เนื่องจากช่วงแรกของการหมักมีสภาพไร้อากาศ แต่แบคทีเรียอะซิติกเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในที่มีอากาศ ดังนั้นจึงพบแบคทีเรียอะซิติกมากในช่วง 72 ชั่วโมงของการหมักซึ่งเป็นช่วงที่มีออกซิเจนในกองหมัก และจุลินทรีย์เหล่านี้จะค่อยๆลดลง (Roelofsen, 1958) ในช่วง 108 ชั่วโมงของการหมัก พบ *Acetobacter roseus* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ทนร้อน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียอะซิติก คือ 30-35 องศาเซลเซียส(Ostovar, 1973) สำหรับ *Gluconobacter oxydans* มีคุณสมบัติคือ ไม่สามารถออกซิไดส์กรดอะซิติกต่อไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำได้ ส่วนจุลินทรีย์สกุล *Acetobacter* สามารถออกซิไดส์เอทานอลเป็นกรดอะซิติก และออกซิไดส์กรดอะซิติกต่อเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ

แบคทีเรียอะซิติกสามารถพบได้ตลอดเวลาการหมักเมล็ดโกโก้ (Roelofsen, 1958) การเจริญของแบคทีเรียอะซิติกทำให้ อุณหภูมิของกองหมักสูงถึงประมาณ 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส หรือมากกว่า มีการสร้างกรดต่างๆขึ้น เป็นสาเหตุทำให้เมล็ดโกโก้ตาย และมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาเคมีในเมล็ดโกโก้เกิดสารตั้งต้นที่ก่อให้เกิดกลิ่นรสช็อกโกแลตขึ้นมา (Wood and Lass, 1985)

7.4 จุลินทรีย์อื่นๆที่พบในการหมัก

ในระยะสุดท้ายของการหมักหรือขณะทำแห้ง จะพบจุลินทรีย์กลุ่มสร้างสปอร์และเจริญในสภาวะที่มีอากาศ โดยเฉพาะกลุ่ม *Bacillus* (Ostovar and Keeney, 1973) มีรายงานว่า *B. subtilis* มีความสัมพันธ์โดยตรงกับ tetramethylpyrazine(TMP) ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม alkylpyrazine ซึ่งที่เป็นสารเริ่มต้นชนิดหนึ่งของสารให้กลิ่นรสในเมล็ดโกโก้ (Zak et al., 1972) นอกจากนี้ยังพบ *Zymomonas mobilis* ในสภาวะที่เมล็ดโกโก้มีน้ำตาลสูง ซึ่ง *Z. mobilis* จะช่วยสลายน้ำตาลในเยื่อหุ้มเมล็ดให้ได้เอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์

8. การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของเมล็ดโกโก้ในระหว่างการหมัก

8.1 น้ำตาล

Rohan และ Stewart (1967) ศึกษาการย่อยสลายของน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรักโทส ระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ในประเทศกานา และไนจีเรีย โดยการวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ในเมล็ดโกโก้ตลอดเวลาการหมัก 6 วัน พบว่าน้ำตาลทั้งหมดมีค่าลดลงตลอดการหมัก ส่วนน้ำตาลรีดิวซ์นั้นมีค่าเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 4 ของการหมัก หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จึงลดลง Reineccius และคณะ(1972) รายงานว่าเมล็ดโกโก้สดที่เก็บจากต้นใหม่ๆ มีน้ำตาลซูโครสปริมาณมาก ในระหว่างการหมักน้ำตาลซูโครสถูกย่อยสลายเป็นน้ำตาลกลูโคส และ น้ำตาลฟรักโทส อย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 3 วันแรกของการหมัก

Berbert (1979) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลระหว่างการหมัก พบว่าเมล็ดโกโก้ที่ไม่ผ่านการหมักนั้นส่วนใหญ่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส ภายหลังการหมักปริมาณน้ำตาลซูโครสลดลงโดยถูกย่อยสลายเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรักโทส และพบว่าปริมาณน้ำตาลฟรักโทสเพิ่มขึ้นในระยะ 4 วันแรกของการหมัก และมีระดับคงที่จนสิ้นสุดการหมัก สำหรับน้ำตาลกลูโคสมีปริมาณต่ำเกือบตลอดการหมัก ระหว่างการหมัก น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรักโทสมีปริมาณลดลง แต่น้ำตาลแมนนิทอลมีปริมาณเพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 3 องค์ประกอบต่างๆ ในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้

องค์ประกอบ	ร้อยละโดยน้ำหนัก
น้ำ	80-90
น้ำตาลกลูโคส	8-13
น้ำตาลซูโครส	0.4-1.0
กรดอินทรีย์ที่ระเหยไม่ได้	0.2-0.4
สารอัลบูมินอยด์ และสารให้ความฝาด	0.5-0.7
เกลือ	0.4-0.45
แป้ง	ปริมาณเล็กน้อย
น้ำตาลฟรักโทส	ปริมาณเล็กน้อย
เหล็กออกไซด์	0.03
กรดอินทรีย์ระเหยได้	ไม่มี
แอลกอฮอล์	ไม่มี

ที่มา : ดัดแปลงจาก Forsyth and Quesnel (1963)

8.2 กรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์ในเมล็ดโกโก้ได้มาจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของเยื่อหุ้มเมล็ด หลังจากนั้นจะแพร่กระจายเข้าสู่เมล็ด การแพร่กระจายของกรดอินทรีย์เข้าสู่เมล็ดโกโก้ จะทำให้เกิดภาวะความเป็นกรดซึ่งเหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ นำมาซึ่งการพัฒนาสารตั้งต้นของกลิ่นรสช็อกโกแลต กรดจะช่วยป้องกันเมล็ดโกโก้ไม่ให้เกิดการเน่าเสียเนื่องจากแบคทีเรียบางชนิด ซึ่งมีผลทำให้เมล็ดโกโก้มีกลิ่นรสที่ไม่ดี

ชนิดของกรดในเมล็ดโกโก้แบ่งได้เป็น กรดที่ระเหยได้ และกรดที่ระเหยไม่ได้ กรดระเหยได้จะรวมถึง c_3 -c_5 fatty acid ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ และ เป็นสารประกอบที่ระเหยได้ง่าย เช่น กรดอะซิติก กรดโปรปีโอนิก กรดบิวทีริก กรดไอโซบิวทีริก และกรดไอโซวาเลอริก ซึ่งกรดเหล่านี้จะมีจุดเดือดต่ำ และมีกลิ่นไม่ดี กรดอะซิติกเป็นกรดตัวสำคัญซึ่งมีถึงร้อยละ 95-98 ของกรดที่ระเหยได้ทั้งหมด (Jinap and Dimick, 1990;

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lopez and Quesnel, 1973) กรดที่ระเหยไม่ได้ประกอบด้วย กรดออกซาลิก กรดซิตริก กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซัคซินิก Jinap and Dimick (1990) ได้ทำการสำรวจกรดในการหมัก 39 ครั้ง จาก 13 ประเทศ พบว่าในบรรดากรดที่ระเหยไม่ได้ กรดซิตริกมีปริมาณมากที่สุด โดยกรดซิตริกจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่สามของการหมัก หลังจากนั้นจะลดลง การที่ลดลงเนื่องมาจากกรดซิตริกถูกสลายไปเป็นกรดอื่นๆ เช่น กรดแลคติก (Lopez, 1983) เนื่องจากเมล็ดโกโก้ที่เก็บในฤดูฝนมีความชื้นสูง ทำให้มีออกซิเจนน้อย เป็นผลให้มีกรดที่ระเหยได้น้อย และมีกรดแลคติกมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดโกโก้ที่เก็บในฤดูแล้ง โดยกรดที่ระเหยได้จะถูกสร้างในช่วงแรกของการหมักจนถึงขั้นการทำแห้ง (Lehrian and Patterson, 1983) การกลับเมล็ดโกโก้ เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การสร้างกรดอะซิติกช้า มีผลทำให้ความเข้มข้นของกรดเมื่อสิ้นสุดการหมักสูง (Lopez and Quesnel, 1973) ช็อกโกแลตที่เตรียมจากเมล็ดโกโก้ที่มีปริมาณกรดสูงจะมี กลิ่นรสช็อกโกแลตต่ำ นอกจากนี้ยังมี กลิ่นรสซึ่งเป็นกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เกิดขึ้น ได้มีการทดลองเปรียบเทียบปริมาณกรดที่ระเหยได้และกรดที่ระเหยไม่ได้ในเมล็ดโกโก้ที่ผ่านการหมักและไม่ผ่านการหมัก ดังแสดงในตารางที่ 4 และ 5 และการที่ปริมาณกรดของแต่ละประเทศต่างกัน เนื่องจากเทคนิคในการหมักที่แตกต่างกัน

8.3 โปรตีน

Offem (1990) พบว่าเมล็ดโกโก้ ที่มีปริมาณโปรตีนสูงต้องใช้เวลาในการหมักนานกว่าเมล็ดที่มีปริมาณโปรตีนต่ำกว่า นอกจากนี้เมล็ดโกโก้ที่ได้จากต้นที่มีอายุน้อยจะปริมาณโปรตีนสูงกว่าเมล็ดโกโก้ที่ได้จากต้นที่มีอายุมาก

การเปลี่ยนแปลงโปรตีนในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้พบว่าปริมาณไนโตรเจนเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ในช่วง 2 วันแรกของการหมัก ทั้งนี้เพราะว่าไนโตรเจนจากส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ดมีการเคลื่อนย้ายเข้าสู่ภายในเมล็ด หลังจากนั้นปริมาณไนโตรเจนลดลงในอัตราที่เกือบคงที่ตลอดการหมัก การย่อยสลายโปรตีนเกิดขึ้นหลังจากทำการหมักเมล็ดโกโก้จนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก การลดลงของโปรตีนสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดอะมิโนอิสระ และเปปไทด์ (Roelofsen, 1958) แต่เมล็ดโกโก้ที่มีปริมาณกรดอะมิโนหรือเปปไทด์สูงไม่ได้มีผลต่อการเกิดกลิ่นรสที่ดีกับเมล็ดโกโก้ (Biehl et al., 1985) Roelofsen (1958) พบว่าโปรตีนทั้งหมดในเมล็ดโกโก้ที่ไม่ผ่านการหมักประกอบด้วย อัลบูมิน ร้อยละ 8.2 โกลบูลิน ร้อยละ 2.1 โปรลามีน ร้อยละ 4.7 กลูทีลิน ร้อยละ 16.3 และองค์ประกอบที่ไม่ละลายอีกร้อยละ 69.9 ส่วนเมล็ดโกโก้ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผ่านการหมักแล้วมีอัลบูลิน ร้อยละ16.4 โกลบูลิน ร้อยละ 1.2 โปรลามีน ร้อยละ 7.7 กลูทีลิน ร้อยละ 32.3 และองค์ประกอบที่ไม่ละลายอีก ร้อยละ 42.5 Zak และ Keeney (1976) พบว่ากรดอะมิโนที่เปลี่ยนแปลงไปในระหว่างการหมัก คือ อัลบูลิน เพิ่มขึ้นร้อยละ 40-70 ขณะที่โกลบูลิน โปรลามีน และกลูทีลินมีปริมาณลดลง การลดลงของโปรตีนเหล่านี้เป็นผลจากการเกิดปฏิกิริยา สีน้ำตาลในเมล็ดโกโก้ ส่วนอัลบูลินที่เพิ่มขึ้นเกิดจากการย่อยสลาย โปรตีนของสารประกอบเชิงซ้อนในเมล็ดโกโก้

8.4 ไขมัน

ปริมาณไขมันในเมล็ดโกโก้มีอยู่มากกว่า ร้อยละ 50 โดยน้ำหนักเมล็ดโกโก้แห้ง (Lehrian and Patterson, 1983) ซึ่งประกอบด้วย กรดไขมันที่สำคัญ คือ กรดปาล์มมิติก กรดสเตียริก และกรดโอลีอิก นอกจากนี้ยังประกอบด้วยกรดไขมันชนิดอื่นๆ ในปริมาณต่ำ คือ กรดไมริสติก กรดลิโนลีอิก กรดลิโนลีนิก กรดอราไคดิก ซึ่งในไขมันเมล็ดโกโก้นั้นมี สารไตรกลีเซอไรด์อยู่ประมาณ ร้อยละ 98 Packiyasothy และคณะ(1981) พบว่าการหมักเมล็ดโกโก้ที่ได้จากฝักโกโก้ที่ยังไม่แก่เต็มที่ ไขมันในเมล็ดโกโก้ไม่เปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมัก

ตาราง 4 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ที่ไม่ระเหยในเมล็ดโกโก้ที่ผ่านการหมักและเมล็ดโกโก้ไม่ผ่านการหมัก

กรด	เมล็ดที่ไม่ผ่านการหมัก	เมล็ดที่ผ่านการหมัก
แลคติก	0.15	2.34
ออกซาลิก	0.25	0.28
ซัคซินิก	0.06	0.03
มาลิก	0.11	0.09
ซิตริก	0.98	0.42

ที่มา:Weissbergerและคณะ(1971)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 5 แสดงชนิดของกรดที่ให้กลิ่นหอมที่พบในเมล็ดโกโก้

ชนิดกรด	เมล็ดโกโก้ที่ผ่านการหมัก	เมล็ดโกโก้ที่ไม่ผ่านการหมัก
อีสคูติน	+	-
พารา-คูมาติก	+	-
เฟอรูอิก	+	-
ออร์โท-ไฮดรอกซีฟีนิลแอซิติก	+	-
พารา-ไฮดรอกซีเบนซิอิก	+	-
พารา-ไฮดรอกซีฟีนิลแอซีติก	+	-
โพลรีติก	+	-
วานิลลิก	+	+
ไซรึมจิก	+	+
ฟีนิลแอซีติก	+	-

ที่มา: Quesnel (1965), + = พบในเมล็ดโกโก้, - = ไม่พบในเมล็ดโกโก้

9. เอนไซม์ในเมล็ดโกโก้

สามารถจำแนกเอนไซม์ในเมล็ดโกโก้ออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

9.1 เอนไซม์กลุ่มไกลออกซิเดส

ดรรชนีการหมักของเมล็ดโกโก้วัดโดยใช้การเปลี่ยนสีของเมล็ดโกโก้จากสารสีม่วงไปเป็นสารสีน้ำตาล เมล็ดโกโก้หากมีสีหินชนวนหรือสีเทาแสดงว่าเป็นเมล็ดโกโก้ที่ยังไม่เกิดการหมัก เอนไซม์ไกลออกซิเดสทำหน้าที่ตัดโมเลกุลของแอนโทไซยานินออกเป็นน้ำตาล และแอนโทไซยานิดิน ภายใต้สภาวะไร้อากาศ หลังจากนั้นเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสจึงทำปฏิกิริยาในช่วงสุดท้ายของการหมักและการทำแห้ง ทำให้เกิดการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลขึ้นในเมล็ดโกโก้ (Maravalhas, 1966)

9.2 เอนไซม์กลุ่มโปรติเอส

ในระหว่างการหมักที่มีสภาพไร้อากาศนั้น การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนกรดอะมิโนโปรตีนเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีน Roelofsen (1958) ศึกษาการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปล่อยกรดอะมิโนไนโตรเจน และโปรตีนไนโตรเจน ระหว่างการหมักของเมล็ดโกโก้พันธุ์ ICS-1 ในประเทศตรินิแดดข้อมูลที่ได้ แสดงให้เห็นว่าปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ละลายในเอทานอลลดลงอย่างมาก ขณะเดียวกันมีการเพิ่มของกรดอะมิโนไนโตรเจนมากขึ้น อัตราส่วนของการเปลี่ยนแปลงค่าดังกล่าวมีค่าต่ำในช่วงฤดูร้อน อันมีสาเหตุมาจากการระเหยน้ำอย่างรวดเร็วของเมล็ดโกโก้ในขณะหมักจนทำให้ค่า water activity ในเมล็ดมีต่ำกว่าจุดวิกฤตของการทำงานของเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีน นอกจากนั้นพบว่าการให้ความร้อนแก่เมล็ดโกโก้ที่อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส มีผลในการเพิ่มปริมาณกรดอะมิโนไนโตรเจนน้อยกว่าการเพิ่มระยะเวลาในการหมักเมล็ดโกโก้

9.3 เอนไซม์กลุ่มโพลีฟีนอลออกซิเดส

ปฏิกิริยาของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส คือ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารอิพิคาทิชินไปเป็นควิโนน ซึ่งจะเกิดการรวมกับตัวเองหรือสารประกอบควิโนนตัวอื่นๆ เป็นสารประกอบสีน้ำตาลขึ้น การออกซิไดซ์อิพิคาทิชินทำให้เกิดสีน้ำตาลอย่างถาวรขึ้นในเมล็ดโกโก้ เป็นผลให้มีการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์บางชนิดและมีผลในการลดปริมาณโปรตีนอันเป็นสารตั้งต้นของเอนไซม์โปรติเอสลง ปฏิกิริยาของเอนไซม์ โพลีฟีนอลออกซิเดส และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาดังกล่าวมีความสำคัญต่อการหมักเมล็ดโกโก้ คือ ก่อให้เกิดสารสีน้ำตาลขึ้นในเมล็ดโกโก้ ช่วยลดความขมของสารแทนนินและลดกลิ่นไหม้ในเมล็ดโกโก้ที่ผ่านการอบแห้งลงได้ (Lehrian and Patterson, 1983)

10. คุณภาพและรสชาติ

คุณภาพของเมล็ดโกโก้มีความสำคัญมากต่อการเกิดเป็นกลิ่นรสช็อกโกแลต ซึ่งคุณภาพของเมล็ดโกโก้จากแหล่งผลิตต่างกันจะมีคุณภาพต่างกัน เมล็ดโกโก้ที่มาจากประเทศแถบอาฟริกาตะวันตกมีคุณภาพดีที่สุดซึ่งต่างจากเมล็ด โกโก้ที่ได้จากแหล่งผลิตแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และแปซิฟิกซึ่งจะมีความเป็นกรดสูง กลิ่นรสช็อกโกแลตต่ำ คุณภาพนอกจากขึ้นกับแหล่งผลิตแล้ว ยังขึ้นกับฤดูกาล การขนส่ง การตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดโกโก้ ผู้ผลิตจากแหล่งใหญ่ๆมักใช้ผู้ที่มีความชำนาญและประสบการณ์สูง

การเกิดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการ (off-flavour) ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดกลิ่นรสช็อกโกแลตต่ำ สาเหตุที่เกิดอาจเนื่องมาจากวิธีการเก็บเกี่ยว การหมักไม่สมบูรณ์ การทำแห้งโดยใช้ไฟ (ทำให้เกิดควันปะปนในเมล็ดโกโก้) หรือการเก็บรักษาไม่ดีหลังขั้นตอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทำแห้ง กลิ่นรสที่ไม่ต้องการส่วนใหญ่จะไม่สามารถกำจัดออกได้แม้ว่าจะผ่านขบวนการแปรรูปแล้ว ซึ่งสามารถจำแนกได้ดังนี้

1. กลิ่นรสของรา (mouldy off-flavours) เกิดในเมล็ดที่ขึ้นราและสามารถเกิดเพิ่มขึ้นได้จาก การหมักที่นานเกินไป นำเมล็ดมาทำแห้งช้า (ถ้าความชื้นในเมล็ดโกโก้มากเกินร้อยละ 8 เมล็ดจะมีโอกาสขึ้นราได้สูง)

2. กลิ่นควัน (smoke off-flavours) ส่วนใหญ่เกิดจากควัน บางครั้งเรียกว่า hammy ซึ่งอาจเกิดได้หลายสาเหตุ

- การทำแห้งโดยการออกแบบตู้อบแห้งไม่ถูกต้อง การควบคุมระบบไม่ดี ใช้ไม้เป็นเชื้อเพลิงในการให้ความร้อน

- สภาวะในการเก็บรักษาหลังการทำแห้งแล้วไม่ดี

3. กลิ่นรสของกรด (acidic off-flavours) มักเกิดจากความหลากหลายของเมล็ดโกโก้ หรือวิธีการหมัก การทำแห้งไม่ดี ซึ่งมีงานวิจัยต่าง ๆ เพื่อลดปัญหานี้

4. การเกิดรสขม (excessive bitterness and astringency) เกิดจากทำการหมักเมล็ดไม่สมบูรณ์ สามารถวิเคราะห์ได้จากการทำ cut-test ซึ่งจะพบว่าเมล็ดมีสีหินชนวน

การหมักเป็นขั้นตอนสำคัญของขบวนการแปรรูปเมล็ดโกโก้ ซึ่งจะทำให้เกิดการพัฒนาเป็นสารที่ให้กลิ่นรสช็อกโกแลต Rohan (1963) พบว่าสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) พิวรีน (Purines) และกรดอะมิโน (Amino acid) มีบทบาทในการพัฒนาเป็นสารตั้งต้นของกลิ่นรสช็อกโกแลต (Precursors) เมล็ดโกโก้จะมีการพัฒนาเป็นสารที่ให้กลิ่นรสของช็อกโกแลตหลังจากทำการคั่วเมล็ดแล้วเท่านั้น

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆ ของเมล็ดโกโก้ที่ทำการหมักและไม่ได้ทำการหมัก พบว่าเมล็ดโกโก้ที่ไม่ได้ทำการหมักจะไม่พบน้ำตาลฟรักโทสและกลูโคสขณะที่เมล็ดโกโก้ที่ทำการหมักแล้ว จะพบน้ำตาลสองตัวนี้ ซึ่งน้ำตาลฟรักโทสและน้ำตาลกลูโคสจะทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน เกิดปฏิกิริยาบราวนิ่ง (Browning reaction) ทำให้เมล็ดโกโก้มีสีน้ำตาล น้ำตาลซูโครสในเมล็ดโกโก้สดจะถูกย่อยสลายเป็นกลูโคสและฟรักโทสระหว่างการหมัก ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ในเมล็ดโกโก้จะเพิ่มขึ้นไปพร้อมกับการพัฒนาของกลิ่นรสและความเข้มข้นของกรดอะมิโน

กรดอะมิโนและน้ำตาลรีดิวซ์เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของสารตั้งต้นของกลิ่นรสช็อกโกแลต (Rohan, 1963) อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ของสารเหล่านี้ยังไม่แน่นอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดอะมิโนจะสร้างระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้โดยปฏิกิริยาการย่อยโปรตีน (Proteolysis) นอกจากนี้พบว่าความเป็นกรดด่างระหว่างการหมักจะมีผลต่อการเกิดกลิ่นรสของช็อกโกแลต ซึ่งความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายโปรตีนอยู่ในช่วง 3.5-4.5 จะได้กรดอะมิโนและเปปไทด์ ที่ทำให้เกิดกลิ่นรสช็อกโกแลต ขณะที่ Keeney (1972) พบว่าการเกิดกลิ่นรสช็อกโกแลต ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณกรดอะมิโนและเปปไทด์ที่ปลดปล่อยออกมา ปฏิกิริยาการย่อยสลายโปรตีนจะเกิดขึ้นสูงสุดเมื่อความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่าหรือเท่ากับ 4.5 การเกิดกลิ่นรสช็อกโกแลตสูงจะพบเมื่อเมล็ดมีความเป็นกรดต่ำรวมทั้งมีปริมาณกรดอะมิโนต่ำในระหว่างการหมัก ดังแสดงในตารางที่ 6

กรดไขมันที่ระเหยได้ซึ่งประกอบด้วยสารที่มีคาร์บอน 3-5 อะตอม (C_3-C_5) เป็นส่วนสำคัญในการทำให้เกิดกลิ่นรสในเมล็ดโกโก้เช่นเดียวกัน โดยพบว่าเมล็ดโกโก้ที่มีกรดไขมันที่ระเหยได้ในปริมาณน้อยเหมาะสมต่อการเกิดกลิ่นรสช็อกโกแลต ถ้าปริมาณกรดไขมันที่ระเหยมากเกินไปจะทำให้เกิดการเน่าเสียเนื่องจากกิจกรรมของแบคทีเรียได้ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ (off-flavour) และการหมักเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์

สำหรับกรดอินทรีย์ จะพบกรดอะซิติกและกรดแลคติกในเมล็ดโกโก้ในปริมาณสูง โดยเฉพาะเมล็ดโกโก้ที่ผ่านการหมักและให้ความร้อนไม่เพียงพอ มีผลทำให้เมล็ดโกโก้มีกลิ่นรสกรดเกิดขึ้น มีรายงานวิจัยในประเทศมาเลเซียที่จะพยายามปรับปรุงคุณภาพของเมล็ดโกโก้ที่ได้จากการหมักโดยลดความเป็นกรด (Chong et al., 1978; Said et al., 1984) จากการทดลองพบว่าการเกิดกลิ่นกรดในเมล็ดโกโก้ไม่ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณของกรดในเมล็ดโกโก้ และพบว่าปริมาณของกรดแลคติกและกรดอะซิติกจะมีความสำคัญต่อการเกิดกลิ่นกรดเมื่อเปรียบเทียบกับกรดซิตริกและกรดออกซาลิก ซึ่งพบอยู่ในปริมาณน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ปริมาณของกลิ่นรสและการย่อยสลายโปรตีนหลังจากทำการบ่มเมล็ดโกโก้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	pH	ไนโตรเจน (%)	Peptide-N (%)	Flavour profile			
				a	b	c	d
40	4.5	9.8	48.8	0	2.5	2	1
50	4.5	8	42.6	0	1.5	1	1.5
50	4.5	2.7	28.9	2.5	0.5	1	0.5
40	4.8	5.8	29.1	2	2.5	2.5	2.5
50	4.9	4.1	23	1.5	1.5	1.5	0
40	4.6	10.5	41.2	0	1.5	1.5	0.5

a = กรด

b = กลิ่นหอม

c = กลิ่นรสโกโก้

d = รสขม

ที่มา : Biehl และคณะ (1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. ผลโกโก้

ใช้ผลโกโก้สดจากสวนเกษตรกรในจังหวัดชุมพร

2. จุลินทรีย์และอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ

ใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ที่แยกได้จากกองหมักโกโก้ตามธรรมชาติ เป็นเชื้อเริ่มต้น

3. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์

สารเคมี และวิธีการเตรียมที่ใช้ในการวิเคราะห์(แสดงรายละเอียดในภาคผนวก) ประกอบด้วย

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ปริมาณกรดทั้งหมด

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ปริมาณกรดแลคติก

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ปริมาณกรดระเหยได้

3.4 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ปริมาณน้ำตาลซูโครส และ น้ำตาลรีดิวซ์

3.5 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ หาค่าดรรชนีการหมัก

อุปกรณ์

1. เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1.1 spectrophotometer

1.2 pH meter

1.3 เครื่องปั่นละเอียด

1.4 เครื่องชั่ง

1.5 เครื่องเขย่า

1.6 ชุดวิเคราะห์หาไขมัน โดยวิธี Soxhlet apparatus

1.7 ชุดเครื่องมือวิเคราะห์หากรดที่ระเหยได้

1.8 ชุดเครื่องมือวิเคราะห์หา น้ำตาลซูโครส และน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปน้ำตาลกลูโคส

1.9 ตู้อบแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อุปกรณ์อื่นๆ

2.1 ปิเปตต์

2.2 บิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร พร้อมขาตั้ง

2.3 ขวดรูปชมพู่

2.4 บีกเกอร์

2.5 หลอดทดลอง

2.6 กระบอกตวง

2.7 ขวดปรับปริมาตร

2.8 เทอร์โมมิเตอร์

2.9 ชุดกรวยกรองแบบสุญญากาศและกระดาษกรองเบอร์ 1

2.10 โถดูดความชื้น

วิธีการ

1.การเตรียมเชื้อเริ่มต้น

ใช้ *Saccharomyces cerevisiae* ที่แยกได้จากธรรมชาติ ถ่ายลงอาหารเหลว PDB เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เทส่วนของเหลวทิ้ง ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 2 ครั้ง เจือจางเซลล์ให้ได้ค่าดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เป็น 0.5 ใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับใส่ในเข่งหมัก

2. ผลโกโก้และการเตรียมเมล็ดโกโก้สำหรับหมัก

นำผลโกโก้ที่ได้จากสวนเกษตรกร บ่มที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน ทำการผ่าเปลือกแกะเมล็ดโกโก้สดออกใส่เข่งผลไม้ที่รองด้วยใบตองโดยมีเมล็ดโกโก้ 35 กิโลกรัม ใน 1 เข่ง จากนั้นเติมเชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 1 ลงไป ร้อยละ 5 และ ร้อยละ 10 ในสองเข่งแรกส่วนเข่งที่สาม เป็นเข่งควบคุมไม่มีการเติมเชื้อ ปิดเข่งด้วยใบตองแล้ววางทับด้วยกระสอบป่านอีกครั้ง ทำการกลับเมล็ดโกโก้ทุก 2 วัน โดยถ่ายใส่เข่งใหม่และทำการวัดอุณหภูมิและสุ่มเก็บตัวอย่างเมล็ดโกโก้ทุกวันๆละ 300 กรัม มาวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์ทางเคมี

- วัดค่าความเป็นกรดด่าง ทั้งในส่วนเมล็ดและเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้
- วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปร้อยละกรดซิตริก (A.O.A.C., 1990)
- วิเคราะห์ปริมาณกรดแลกติก(Barber and Summerson, 1941)
- วิเคราะห์ปริมาณกรดที่ระเหยได้ในรูปร้อยละกรดอะซิติก(A.O.A.C., 1990)
- วิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลซูโครสและน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปน้ำตาลกลูโคสโดยวิธี Luff-Schoorl method (A.O.A.C., 1990; Egan et al., 1981) ทั้งในส่วนเมล็ดและเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้
- วิเคราะห์ปริมาณไขมันในเมล็ดโกโก้สดและในเมล็ดโกโก้แห้ง (A.O.A.C., 1990)
- ปริมาณความชื้นในเมล็ดโกโก้แห้ง (A.O.A.C., 1990)
- หาค่าดรรชนีการหมักของเมล็ดโกโก้ (Gourieva and Tserevitinov, 1979)

2.การวิเคราะห์ทางกายภาพ

- วัดอุณหภูมิ
- หาค่า cut-test ของเมล็ดโกโก้แห้งที่ได้จากการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

การหมักเมล็ดโกโก้ในภาชนะที่เป็นเข่งผลไม้ บริเวณด้านนอกกองหมักจะเป็นสภาวะที่มีอากาศ ส่วนบริเวณกลางกองหมักจะเป็นสภาวะที่ไม่มีอากาศ การทดลองได้ทำการกลับเมล็ดทุก 2 วัน จนกระบวนการหมักสิ้นสุดในวันที่ 7 การกลับกองหมักจะมีผลต่อสภาวะของการหมัก ถ้ามีการถ่ายเทอากาศที่ดี มีผลทำให้การผลิตกรดอะซิติกและอุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งมีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์ภายในเมล็ดโกโก้และมีผลต่อ กลิ่นรสช็อกโกแลต

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของกองหมัก แสดงดังรูป 5 พบว่าทุกชุดการทดลองมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการหมัก หลังจากนั้นมีค่าลดลงจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก ในชุดการทดลองที่เติม *S. cerevisiae* ร้อยละ 5 และร้อยละ10 เป็นเชื้อเริ่มต้นมีอุณหภูมิสูงสุด ในวันที่ 3 คือ 46 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุมมีอุณหภูมิสูงสุดในวันที่ 4 อุณหภูมิที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก เกิดจากความร้อนที่เกิดขึ้นเนื่องจากเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ การเพิ่มขึ้นของเซลล์จุลินทรีย์ รวมทั้งการกลับกองหมักมีผลทำให้อุณหภูมิสูงขึ้น อันเนื่องจากมีออกซิเจนเพื่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ พบว่าอุณหภูมิสูงจะเป็นปัจจัยสำคัญในการทำลายจุลินทรีย์ โดยเฉพาะยีสต์ได้ง่าย (ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส) และถ้าหากอุณหภูมิของกองหมักเพิ่มสูงขึ้นไม่เพียงพอ จะมีผลทำให้การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของเมล็ดโกโก้เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ ทำให้เมล็ดโกโก้แห้งที่ได้มีคุณภาพที่ไม่ดี

จากรูปที่ 5 พบว่าอุณหภูมิมีค่าค่อนข้างจะคงที่หลังจากการหมักผ่านไป 3 วัน จึงไม่จำเป็นจะต้องกลับกองหมักโกโก้หลังจากหมักไปแล้ว 2-3 วัน เพราะอุณหภูมิของกองหมักในช่วงแรกเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการหมักของเมล็ดโกโก้แล้ว

การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลรีดิวซ์ (กลูโคส) ในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้และเมล็ดโกโก้ แสดงดังรูปที่ 6 และ 7 ตามลำดับ พบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสในเยื่อหุ้มเมล็ดจะลดลงอย่างรวดเร็ว โดยวันที่ 4 ของการหมักชุดการทดลองที่เติม *S. cerevisiae* ร้อยละ 5 เป็นเชื้อเริ่มต้นจะมีปริมาณน้ำตาลร้อยละ 0.09 ขณะที่ชุดการทดลองควบคุมมีปริมาณน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลูโคส ร้อยละ 0.21 ซึ่งน้ำตาลในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้เป็นอาหารอย่างดีของจุลินทรีย์ ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ และมีปริมาณออกซิเจนต่ำ เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ โดยยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลในเยื่อหุ้มเมล็ดไปเป็นแอลกอฮอล์ สำหรับการเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคสในเมล็ดโกโก้จะพบว่าในช่วงแรกของการหมักปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 3 ของการหมัก หลังจากนั้นจะลดลงทุกชุดการทดลอง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เพิ่มขึ้นเนื่องมาจากมีการย่อยสลายน้ำตาลซูโครสในเมล็ดไปเป็นน้ำตาลกลูโคสโดยกิจกรรมของเอนไซม์ภายในเมล็ด

การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลซูโครสในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้และเมล็ดโกโก้แสดงดังรูปที่ 8 และ 9 ตามลำดับ พบว่าทุกชุดการทดลองมีปริมาณน้ำตาลซูโครสในเยื่อหุ้มเมล็ดและเมล็ดลดลง การลดลงเป็นผลมาจากกิจกรรมของยีสต์ที่ย่อยสลายน้ำตาลซูโครสไปเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรักโทส น้ำตาลซูโครสถูกย่อยสลายไปอย่างรวดเร็วเกือบหมดในวันแรกของการหมัก โดยชุดการทดลองทั้งสามจะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ วันสุดท้ายของการหมักชุดการทดลองที่เติม *S. cerevisiae* ร้อยละ 5 เป็นเชื้อเริ่มต้นมีปริมาณน้ำตาลซูโครสต่ำสุด ส่วนชุดควบคุมมีปริมาณน้ำตาลซูโครสสูงสุด

ปริมาณกรดแลคติกในเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมักของทั้งสามชุดการทดลอง มีปริมาณเพิ่มขึ้นตลอดการหมัก แสดงดังรูปที่ 10 เนื่องจากกรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ที่ไม่ระเหยจึงสะสมอยู่ในเมล็ดโกโก้ตลอดการหมัก และกรดแลคติกสามารถเกิดจากการออกซิเดชั่นของกรดซิตริกได้อีกด้วย (Weissberge, et al., 1971) จากผลการทดลองพบว่าในวันสุดท้ายของการหมัก ชุดการทดลองที่เติม *S. cerevisiae* ร้อยละ 5 ร้อยละ 10 และชุดควบคุม มีปริมาณกรดแลคติกร้อยละ 0.05 ร้อยละ 0.059 และร้อยละ 0.069 ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าทั้งสามชุดการทดลองมีปริมาณกรดแลคติกไม่แตกต่างกัน

กรดที่ระเหยได้ในรูปกรดอะซิติก ในระหว่างการหมักเป็นเวลา 7 วัน แสดงดังรูปที่ 11 ปริมาณกรดอะซิติกของทั้งสามชุดการทดลองจะมีค่าเพิ่มขึ้นและสูงสุดในวันที่ 3 ของการหมัก ซึ่งสัมพันธ์กับค่าการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ในเมล็ดโกโก้ หลังจากนั้นปริมาณกรดอะซิติกจะมีค่าลดลงโดยพบว่าในวันสุดท้ายของการหมัก ชุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่มีการเติมเชื้อ *S. cerevisiae* ร้อยละ 5 ร้อยละ 10 และชุดการทดลองควบคุม มีปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 0.04 ร้อยละ 0.09 และร้อยละ 0.07 ตามลำดับ

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง จะเกิดจากจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ใช้สารอาหารจากเยื่อหุ้มเมล็ดเพื่อการเจริญและเกิดเมตาบอลิซึม การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้และเมล็ดโกโก้ แสดงดังรูปที่ 12 และ 13 ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของเมล็ดโกโก้และเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้มีค่าเป็น 6.71 และ 4.27 ตามลำดับ ค่าความเป็นกรด-ด่างของเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้ทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้น ขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างของเมล็ดโกโก้ลดลงเมื่อเวลาในการหมักนานขึ้น จากการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่เติม *S. cerevisiae* ร้อยละ 5 เป็นเชื้อเริ่มต้น มีค่าความเป็นกรด-ด่างในเมล็ดสูงสุด ส่วนชุดควบคุมมีค่าความเป็นกรด-ด่างในเมล็ดต่ำสุด การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างมีผลเนื่องมาจากปริมาณกรดทั้งหมด กรดที่ระเหยได้ และกรดแลคติก การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง มีความสำคัญต่อการหมักเมล็ดโกโก้ ความเป็นกรดในเยื่อหุ้มเมล็ดสามารถซึมผ่านเข้าผนังเซลล์เมล็ดโกโก้ มีผลทำให้สภาพภายในเมล็ดโกโก้มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น ซึ่งจะผลต่อการทำงานของเอนไซม์ที่อยู่ภายในเมล็ดโกโก้ การทำงานของเอนไซม์เหล่านี้ก่อให้เกิดสารตั้งต้น (flavour precursor) ของกลิ่น-รส นอกจากนี้ความเป็นกรดมีผลทำให้เกิดยับยั้งการงอกของเมล็ดโกโก้ได้อีก ซึ่งการงอกนั้นเป็นลักษณะที่ไม่ต้องการให้เกิดขึ้นระหว่างการหมัก

ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริกในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้และเมล็ดโกโก้ แสดงดังรูปที่ 14 และ 15 ตามลำดับ ในเมล็ดโกโก้ก่อนการหมักมีปริมาณกรดทั้งหมดเป็นร้อยละ 0.014 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก ทุกชุดการทดลองจะมีปริมาณกรดทั้งหมดในเมล็ดโกโก้เพิ่มขึ้นและลดลง ในวันสุดท้ายของการหมัก ชุดการทดลองที่เติม *S. cerevisiae* ร้อยละ 5 เป็นเชื้อเริ่มต้น มีปริมาณกรดทั้งหมดในเมล็ดต่ำสุด โดยพบร้อยละ 0.017 สำหรับชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 10 และชุดควบคุม มีปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.017และร้อยละ 0.023 ตามลำดับ สำหรับปริมาณกรดทั้งหมดในเยื่อหุ้มเมล็ดจะลดลงทุกชุดการทดลอง

การเปลี่ยนแปลงค่าดรรชนีการหมักของเมล็ดโกโก้ที่ได้จากการหมักด้วย *S. cerevisiae* แสดงดังรูปที่ 16 พบว่าในตอนเริ่มต้นเมล็ดโกโก้มีค่าดรรชนีการหมักเป็น 0.4 แสดงว่าเมล็ดโกโก้ที่บ่มไว้ก่อนการหมักนั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบภายในเมล็ดบ้างแล้ว ระหว่างการหมักทุกชุดการทดลองมีค่าดรรชนีการหมักเพิ่มขึ้น โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าในวันสุดท้ายของการหมักชุดการทดลองที่เติม *S. cerevisiae* ร้อยละ 5 เป็นเชื้อเริ่มต้นมีค่าดรรชนีการหมักสูงสุด ส่วนชุดควบคุมมีค่าดรรชนีการหมักต่ำสุด และจากการหมักครั้งนี้ พบว่าทุกชุดการทดลองมีค่าดรรชนีการหมักใกล้เคียง 1 ซึ่งแสดงว่าการหมักเกิดค่อนข้างสมบูรณ์

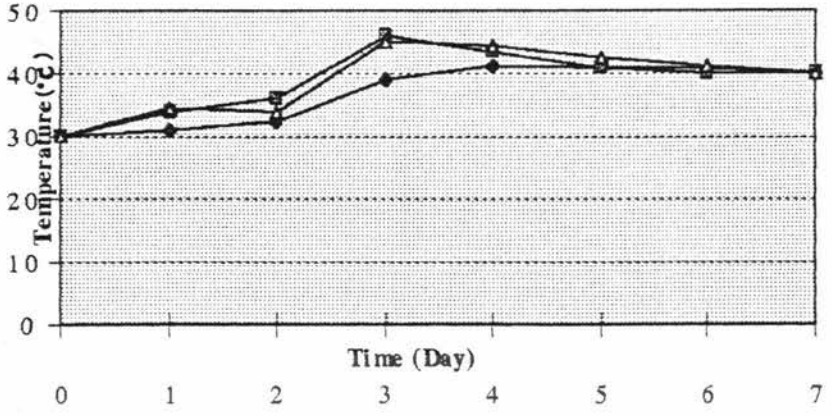
การเปลี่ยนแปลงไขมันในเมล็ดโกโก้แสดงดังตาราง 7 พบว่าเมล็ดโกโก้สดมีปริมาณไขมันร้อยละ 15.07 และหลังจากหมักไปแล้วเป็นเวลา 7 วัน ปริมาณไขมันของทุกชุดการทดลองจะเพิ่มขึ้น โดยชุดการทดลองที่เติม *S. cerevisiae* ร้อยละ 5 เป็นเชื้อเริ่มต้น จะมีปริมาณไขมันสูงสุด คือ ร้อยละ 19.07 ส่วนชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 10 และชุดการทดลองควบคุมมีปริมาณไขมัน ร้อยละ 17 ร้อยละ 17.58 ตามลำดับ

สำหรับค่าความชื้นในเมล็ดโกโก้ แสดงดังตาราง 8 พบว่าก่อนการหมักเมล็ดโกโก้มีความชื้นร้อยละ 0.349 และจากทำการหมักไปแล้ว 7 วัน นำเมล็ดโกโก้มาทำแห้งโดยการตากแดดเป็นเวลา 7 วันแล้วนำเมล็ดแห้งมาหาความชื้นพบว่าปริมาณความชื้นของทุกชุดการทดลองจะลดลง โดยชุดการทดลองที่เติม *S. cerevisiae* ร้อยละ 5 ร้อยละ 10 และชุดควบคุม มีปริมาณความชื้นร้อยละ 0.043 ร้อยละ 0.051 และร้อยละ 0.046 ตามลำดับ

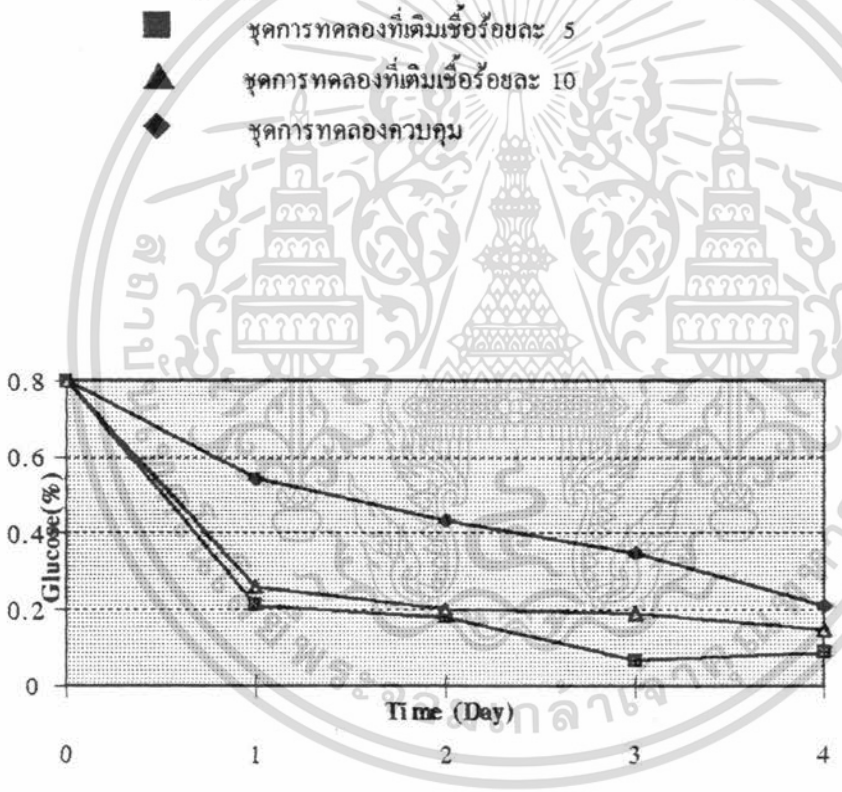
จากการทำ cut-test ของเมล็ดโกโก้แห้ง พบว่าเมล็ดโกโก้แห้งที่ได้จากชุดการทดลองที่เติม *S. serevisiae* ร้อยละ 10 ให้ค่าร้อยละของเมล็ดสีน้ำตาลสูงสุด ดังแสดงในตารางที่ 9

เมื่อนำเมล็ดโกโก้แห้งที่ผ่านการหมักมาหา sensory test แสดงดังตารางที่ 10 พบว่าชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 5 มีกลิ่นกรดมากกว่า กลิ่นโกโก้ และรสโกโก้น้อยกว่าชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 10 และชุดควบคุม ส่วนกลิ่นควัน กลิ่นหืน รสเปรี้ยว และรสฝาด ไม่มีความแตกต่างกันในทุกชุดการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

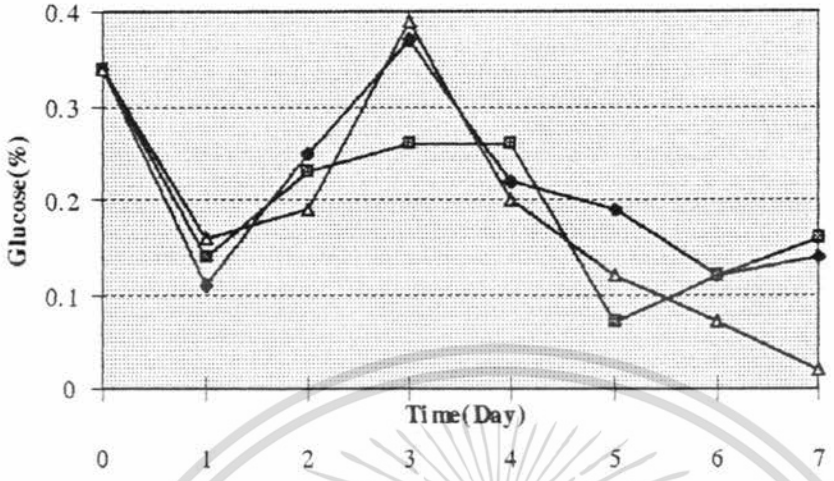


รูปที่ 5 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

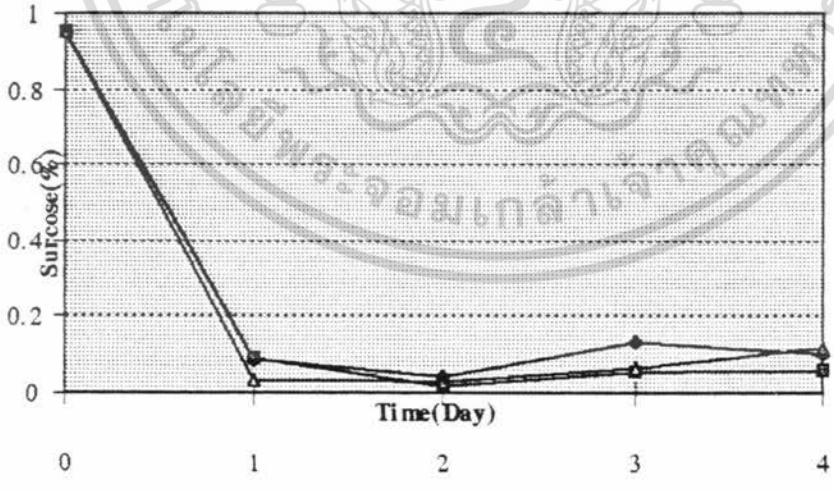


รูปที่ 6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (น้ำตาลกลูโคส) ในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

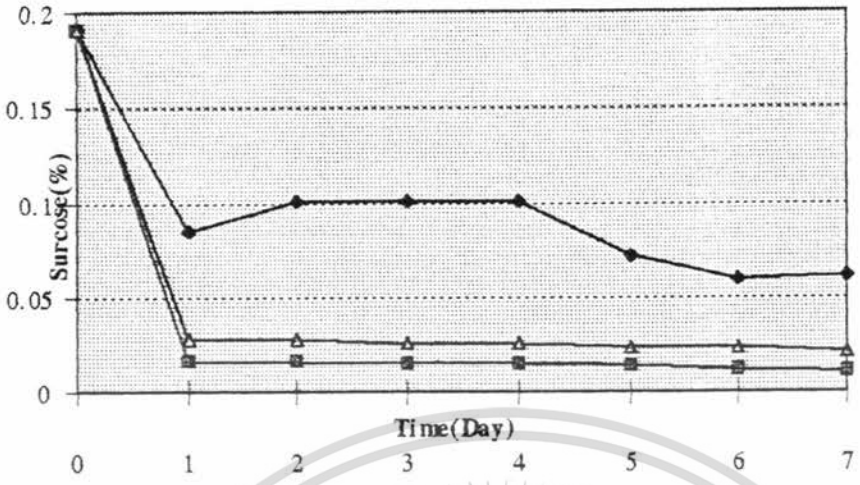


รูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (น้ำตาลกลูโคส) ในเมล็ดโกโก้ ระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

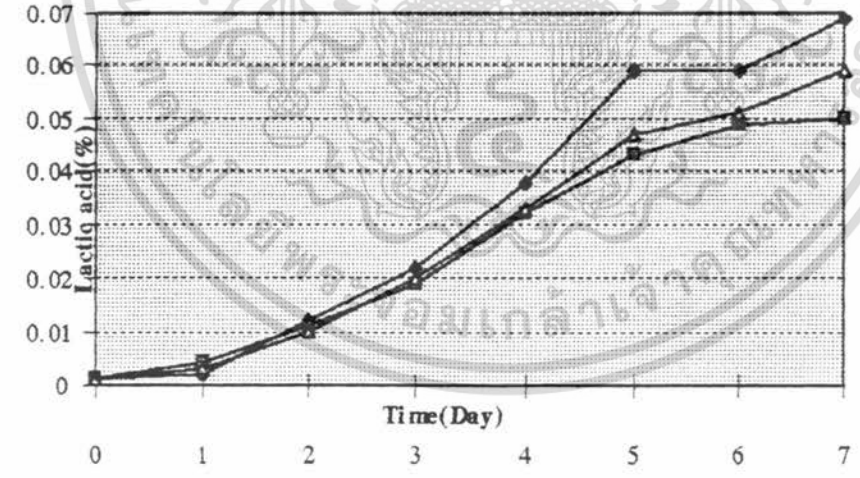


รูปที่ 8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลซูโครสในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้ ระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

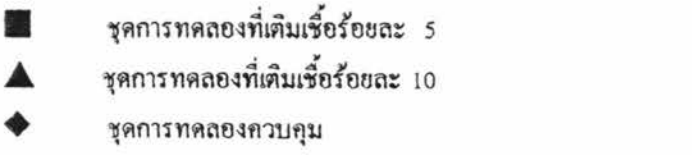
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



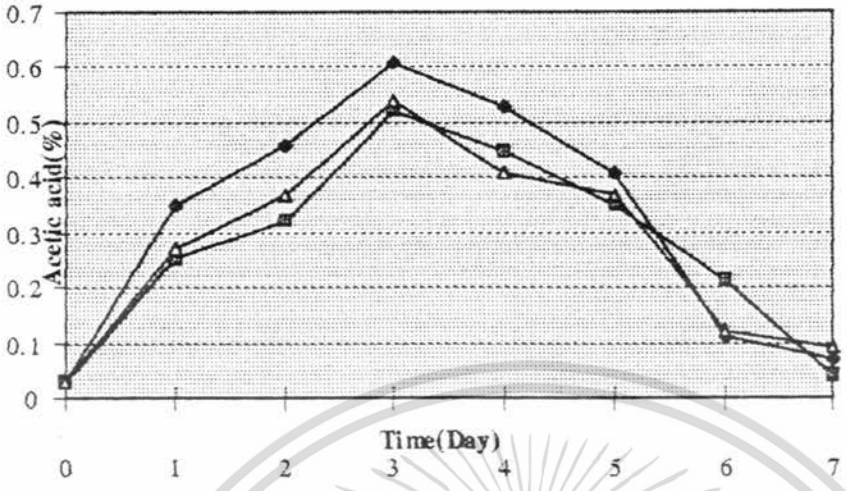
รูปที่ 9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลซูโครสในเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*



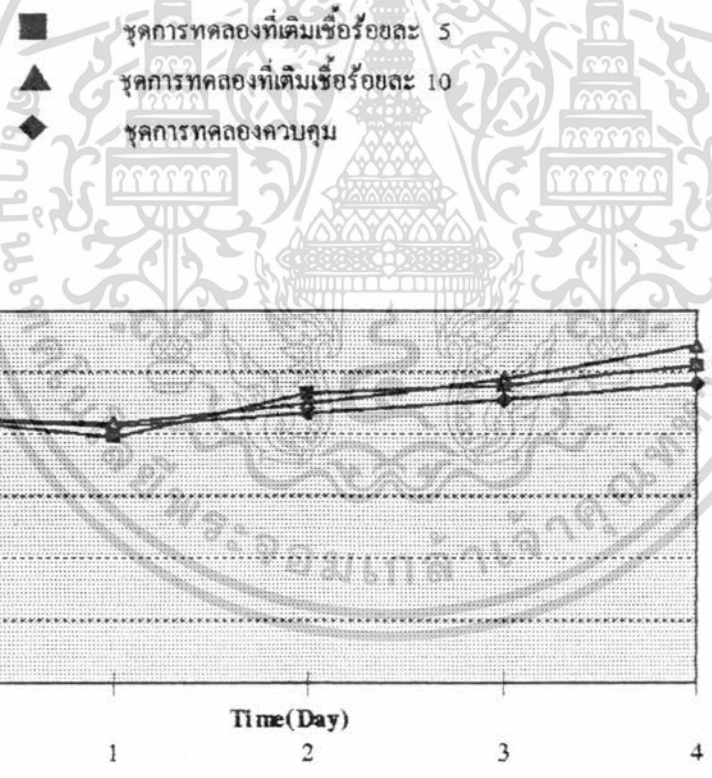
รูปที่ 10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติกระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

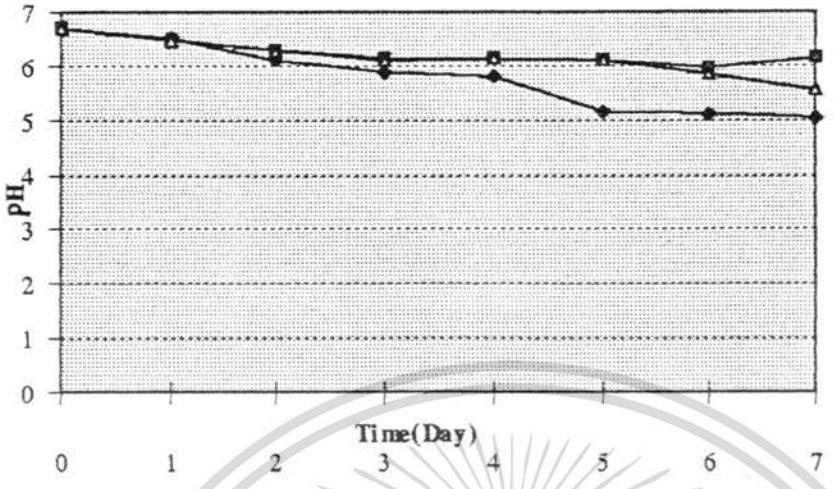


รูปที่ 11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ระเหยได้ (กรดอะซิติก) ระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*



รูปที่ 12 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ในเยื่อหุ้มเมล็ดระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

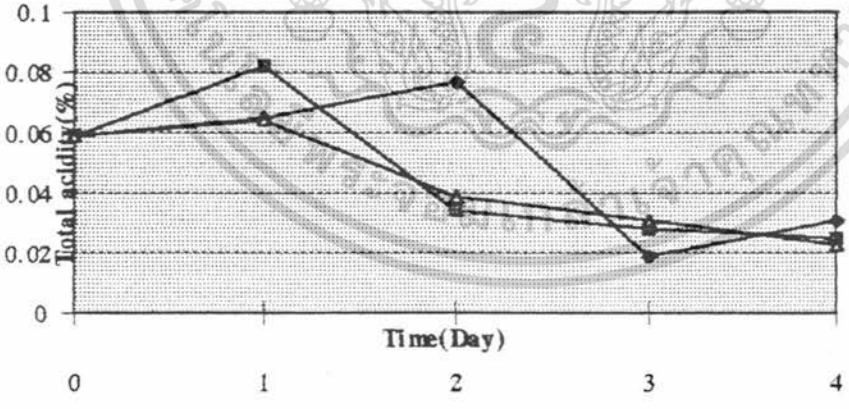


รูปที่ 13 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ในเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

■ ชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 5

▲ ชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 10

◆ ชุดการทดลองควบคุม



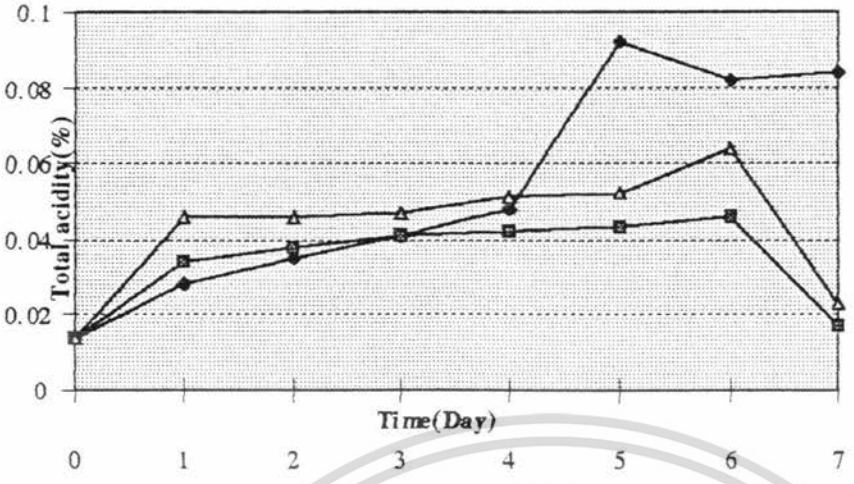
รูปที่ 14 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด (กรดซิตริก) ในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

■ ชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 5

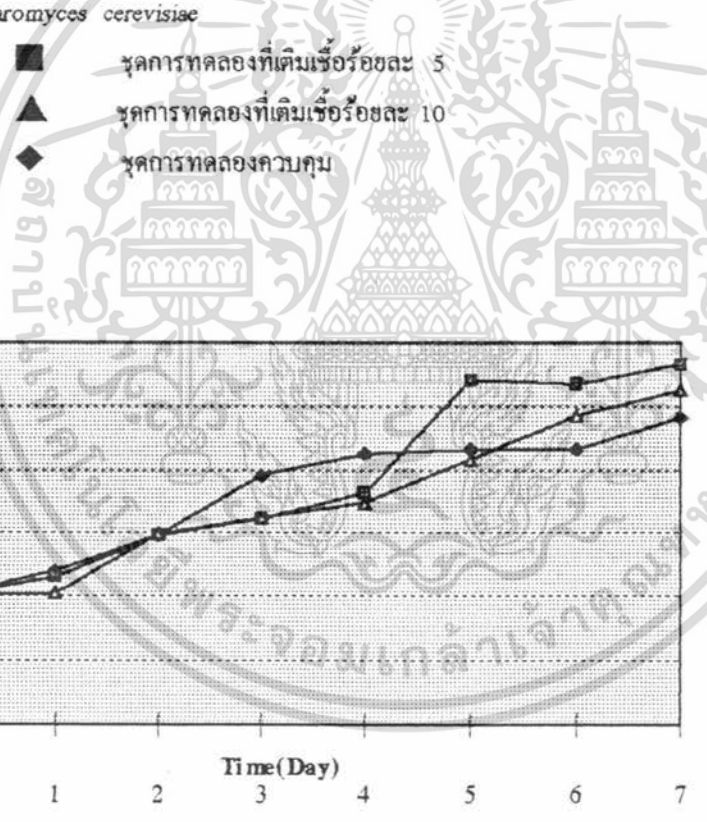
▲ ชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 10

◆ ชุดการทดลองควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด (กรดซิตริก) ในเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*



รูปที่ 16 การเปลี่ยนแปลงค่าดรรชนีการหมัก ระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมันในวันแรกและวันสุดท้ายของการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

ไขมัน	ชุดควบคุม	5%	10%
วันที่ 0	15.07%	15.07%	15.07%
วันที่ 7	17.58%	19.07%	17.00%

ตารางที่ 8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นในวันแรกและวันสุดท้ายของการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

ความชื้น	ชุดควบคุม	5%	10%
วันที่ 0	0.349%	0.349%	0.349%
วันที่ 7	0.046%	0.043%	0.051%

ตารางที่ 9 ค่า cut test ของเมล็ดโกโก้แห้งที่หมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

treatment	mouldy	slaty	partly B partly P	fully B	insect damaged	germinate	flat/ shriveled	light Y light W
control	_	_	13%	87.00%	_	_	_	_
5%	2.50%	2.50%	7.50%	87.50%	_	_	_	_
10%	_	0.50%	4.50%	95%	_	_	_	_

หมายเหตุ B = brown

P = purple

Y = yellow

W = wihte

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 แสดงค่าคะแนนเฉลี่ยของการประเมินผลการยอมรับโกโก้ที่ทำการหมักด้วยเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

ชุดการทดลอง	ชุดควบคุม	5%	10%
กลิ่นกรด	4.5	3.7	3.5
กลิ่นควัน	4.5	4.5	5.0
กลิ่นหืน	4.9	5.2	4.9
กลิ่นโกโก้	5.2	6.3	6.2
รสเปรี้ยว	4.3	5.3	4.6
รสฝาด	3.0	3.3	4.3
รสโกโก้	3.7	5.9	5.8

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
บทสรุปและข้อเสนอแนะ

ปัจจัยประการหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพของเมล็ดโกโก้แห้ง คือ การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมัก จากการทดลองโดยการใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งแยกมาจากกองหมักเมล็ดโกโก้ มาใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมักครั้งนี้ โดยใช้ในความเข้มข้นของเชื้อต่างกัน คือ ร้อยละ 5 และร้อยละ 10 เปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติมจุลินทรีย์ลงไป ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวเคมีและทางกายภาพ พบว่าชุดการทดลองที่ใช้เชื้อร้อยละ 5 มีปริมาณความเป็นกรดในเมล็ดน้อยกว่าชุดการทดลองอื่น รวมทั้งปริมาณกรดทั้งหมด (กรดซิตริก) ปริมาณกรดระเหยได้ (กรดอะซิติก) และปริมาณกรดแลคติกในเมล็ดโกโก้ก็มีค่าต่ำกว่าชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 10 และชุดควบคุม สำหรับค่าดรรชนีการหมักในชุดการทดลองที่เติมเชื้อร้อยละ 5 มีค่าสูงกว่าชุดการทดลองอื่น แต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดต่างๆ ค่าดรรชนีการหมัก ฯลฯ ในชุดการทดลองทั้งสามไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนค่าการประเมินผลการยอมรับโกโก้ที่ได้จากการหมักโดยส่วนใหญ่จะไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จากการทดลองครั้งนี้พบว่าการใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมักเมล็ดโกโก้ โดยใช้เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 ก็สามารถทำให้การหมักเกิดขึ้นโดยสมบูรณ์ รวมทั้งเมล็ดโกโก้แห้งที่ได้มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 17 แสดงต้นและผลโกโก้

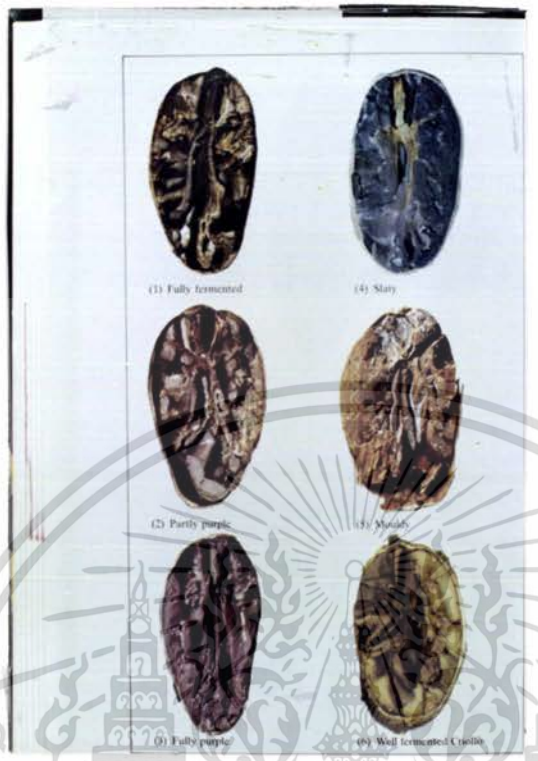
รูปที่ 18 แสดงลักษณะเมล็ดโกโก้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 19 แสดงเมล็ดโกโก้ที่บรรจุอยู่ในเข่ง

รูปที่ 20 แสดงการกลับเมล็ดโกโก้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 21 แสดงลักษณะสีของเมล็ดโกโก้แบบต่างๆในการทำ cut test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ข้อมูลปฐมภูมิประกอบการวิจัย

ตารางภาคผนวก ก1. ผลผลิตเมล็ดโกโก้โลกระหว่างการผลิตปี 2528 ถึง 2532 แสดงเฉพาะประเทศที่สำคัญ

(หน่วย : พันตัน)

ประเทศ	ปีการผลิต				
	2528	2529	2530	2531	2532
กลุ่มประเทศอัฟริกา					
(รวม)	1097	1117	1118	1444	1384
ไอวอรี่โคสท์	580	611	664	820	750
กานา	219	226	184	289	300
ไนจีเรีย	120	100	150	160	160
แคเมอรูน	119	123	131	124	120
ซีย์ราเลโอน	10	9	9	7	10
โตโก	14	14	11	9	9
อิควอเตอเรียลกินี	9	8	7	7	8
ซาอีร์	5	6	6	6	6
ไลบีเรีย	5	4	4	5	4
กินี	4	4	3	3	4
ประเทศอื่นๆ	12	12	12	14	13
กลุ่มประเทศอเมริกากลางและอเมริกาเหนือ					
(รวม)	105	115	104	120	125
เม็กซิโก	49	47	41	57	52
สาธารณรัฐโดมินิกัน	35	44	39	41	49
คอสตาริกา	4	5	4	4	4
ไฮติ	5	6	5	5	5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก1. (ต่อ)

(หน่วย : พันตัน)

ประเทศ	ปีการผลิต				
	2528	2529	2530	2531	2532
กัวเตมาลา	2	2	2	2	3
ประเทศอื่น ๆ	10	11	13	11	11
กลุ่มประเทศอเมริกาใต้					
(รวม)	625	618	465	539	567
บราซิล	431	459	329	375	397
เอกัวดอร์	131	90	58	85	94
โคลัมเบีย	43	47	54	54	56
ประเทศอื่น ๆ	20	22	24	25	20
กลุ่มประเทศเอเชีย					
(รวม)	137	183	259	298	338
มาเลเซีย	99	130	190	230	255
อินโดนีเซีย	20	37	50	49	65
ฟิลิปปินส์	5	7	9	9	9
ประเทศอื่น ๆ	13	9	10	10	9
กลุ่มประเทศโอเชียเนีย					
(รวม)	36	36	37	41	53
ปาปัวนิวกินี	32	32	32	36	47
ประเทศอื่น ๆ	4	4	5	5	6
ยอดรวมทั้งโลก	2,000	2,069	2,046	2,442	2,467

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก2. ปริมาณการส่งออกเมล็ดโกโก้แห้ง ช็อกโกแลต และผลิตภัณฑ์จากโกโก้ ของประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ.2527- พ.ศ.2533

ปริมาณ : เมตริกตัน

มูลค่า : พันบาท

ปี	2527		2528		2529		2530		2531		2532		2533	
ชนิด	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า
เมล็ดโกโก้แห้ง	20	787	32	1,299	44	2,032	77	2,583	124	3,693	101	2,669	38	864
ช็อกโกแลต	2	80	44	1,176	3	134	3	94	17	876	111	7,277	221	17,011
ผลิตภัณฑ์จากโกโก้	49	1,601	9	602	34	1,133	29	1,136	7	697	173	7,764	870	66,964

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2533; 2534)

ตารางภาคผนวก ก3. ปริมาณการนำเข้าผลิตภัณฑ์โกโก้ ของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2529 - พ.ศ. 2533

ปริมาณ : พันกิโลกรัม

มูลค่า : พันบาท

ปี	2629		2630		2631		2632		2633	
ชนิด	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า
เมล็ดโกโก้แห้ง	-	-	-	-	-	-	-	-	1,521.96	60,726
โกโก้เพสต์	6.97	626	11.76	1,210	10.48	1,016	25.67	2,101	30.64	2,607
เนยโกโก้	6.80	989	9.24	1,305	8.61	1,013	13.01	1,672	15.06	1,666
โกโก้ผง	882.66	37,660	1,176.05	46,109	1,828.97	66,659	2,661.01	86,140	3,116.78	99,169
ช็อคโกแลต	487.99	61,635	601.69	92,263	580.96	79,138	912.49	133,987	816.77	100,118
อาหารอื่น ๆ ที่ผสมโกโก้	27.08	2,211	4.26	362	40.04	3,615	361.85	46,602	573.46	97,294
รวม	1,410.39	103,1221	1,802.89	140,599	2,468.95	151,241	3,874.03	6,073,638	6,073.64	351,469

ที่มา : ดัดแปลงจาก กสิกรไทย, ธนาคาร, (2534)

หมายเหตุ : ปี 2532-2533 ตัวเลขเบื้องต้น กรมเศรษฐกิจการพาณิชย์

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์เมล็ดโกโก้และเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้

1.การหาค่าความเป็นกรด-ด่าง

นำตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ในบิกเกอร์ขนาด 150 มิลลิลิตร เติมน้ำร้อนปริมาตร 90 มิลลิลิตร อย่างช้าๆ เขย่า แล้วนำไปกรอง ทำให้เย็นจนอุณหภูมิประมาณ 20-25 องศาเซลเซียส วัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดพีเอช

2.การหาค่าดรรชนีการหมัก(Fermentation Index)(Gourieva and Tserevitinov, 1979)

สารเคมี

- เมทานอล
- กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

เตรียมโดยผสม เมทานอลกับกรดไฮโดรคลอริกในอัตราส่วน 97:3

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งเมล็ดโกโก้ที่บดแล้ว ปริมาณ 0.5 กรัม ใส่ในขวดแก้วรูปกรวยขนาด 125 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายผสมของเมทานอล กับ กรดไฮโดรคลอริกที่เตรียมไว้ ลงไป 50 มิลลิลิตร
3. เขย่าขวดรูปกรวยดังกล่าวนำไปเก็บในตู้เย็น (8 องศาเซลเซียส) เป็นเวลานาน 16-18 ชั่วโมง
4. นำสารละลายในขวดรูปกรวย มากรองด้วยระบบสูญญากาศ โดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1
5. สารละลายที่ได้จากการกรอง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 460 และ 530 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
6. คำนวณค่าดรรชนีการหมัก

$$\text{ค่าดรรชนีการหมัก} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 460 นาโนเมตร}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลซูโครส (Egan et al., 1981; A.O.A.C., 1990)

3.1 การหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี Luff-Schoorl method

สารเคมี

- anhydrous sodium carbonate
- citric acid monohydrate
- copper II sulphate pentahydrate
- zinc acetate dihydrate
- acetic acid
- potassium ferrocyanide trihydrate
- potassium iodine solution 30% w/v
- sulphuric acid solution (3M)
- isopentanol
- sodium thiosulphate solution (0.1M)

การเตรียมสารละลาย Carrez I

เตรียมโดยละลายกรดอะซิติก ปริมาณ 3 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อย แล้วเติมสาร zinc acetate dihydrate ปริมาณ 21.9 กรัมลงไปละลาย แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลาย Carrez II

เตรียมโดยทำการละลาย potassium ferrocyanide trihydrate ปริมาณ 10.6 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร

การเตรียม Luff- Schoorl Reagent

1. ละลาย anhydrous sodium carbonate 143.8 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้จนเย็น จึงเติมสารละลายที่เตรียมจากข้อ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ละลาย citric acid monohydrate ปริมาณ 50 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมลงไปในสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 1 พร้อมกับเขย่าให้ทั่ว

3. เมื่อสารละลายไม่มีฟองก๊าซเกิดแล้ว เติม copper II sulphate pentahydrate 25 กรัม ลงไปในสารละลาย

4. ปรับปริมาตรของผสมภายในขวด และผสมให้เข้ากัน

5. ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน แล้วกรองเอาตะกอนที่เกิดขึ้นออก

6. สารละลายที่ได้จะต้องมีความเข้มข้นของสารที่แน่นอน คือ copper II มีความเข้มข้น 0.1 โมล และ sodium carbonate มีความเข้มข้น 1 โมล

วิธีการทำ Standardize สาร Luff-Schoorl Reagent

1. ใช้สารละลาย reagent ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เติมด้วยโพแทสเซียมไอโอไดด์ 3 กรัม และสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 โมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

2. ไตเตรต ด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยใช้น้ำแป้งเป็นอินดิเคเตอร์ (ความเข้มข้นร้อยละ 0.5) เมื่อสิ้นสุดการไตเตรตควรใช้โซเดียมไธโอซัลเฟตประมาณ 25 มิลลิลิตร

3. ใช้ reagent 10 มิลลิลิตร มาทำให้เจือจางเป็น 100 มิลลิลิตร

4. เติมสาร reagent ที่เจือจางแล้วในข้อ 3 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

5. นำไปวางในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

6. ทำให้เย็นลง และปรับปริมาตรให้เท่าเดิมด้วยน้ำกลั่น

7. นำไปไตเตรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล โดยมีฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ใช้ควรอยู่ในช่วง 5.5-6.5 มิลลิลิตร

8. ไตเตรตสาร reagent ที่เจือจางแล้วปริมาตร 10 มิลลิลิตร ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยใช้ฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ปริมาตรของกรดที่ใช้ในการไตเตรตควรจะเท่ากับ 6.0-7.5 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. ค่าพีเอช ของสาร reagent ควรประมาณ 9.3-9.4

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (ประมาณ 15-20 กรัม) ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. เติมน้ำร้อนลงไป 150 มิลลิลิตร ทำการเขย่า เพื่อสกัดสารที่ละลายน้ำออกมา

3. ทำสารละลายให้ใส ด้วยการเติมสารละลาย Carrez I ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วตามด้วยการเติมสารละลาย Carrez II อีก 5 มิลลิลิตร

4. เขย่าและปรับปริมาตรผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แยกส่วนของของเหลวออกมา โดยการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

5. นำส่วนของเหลวที่ได้มาเจือจาง จนกระทั่งตัวอย่างสารละลายที่เจือจาง 25 มิลลิลิตร นั้นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ 15-60 มิลลิลิตร

6.ใส่สารละลาย Luff-Schoorl reagent ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 300 มิลลิลิตร

7. เติมสารละลายที่เจือจางไว้ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงไป

8. ใส่เม็ดแก้วกันกระแทกลงไปในฟลาสก์ 2-3 อัน

9. ทำการ reflux โดยปรับอุณหภูมิให้สารละลายเดือดเป็นเวลา 2-3 นาที แล้วลดอุณหภูมิของการ reflux ลงไป ปล่อยทิ้งไว้ให้เดือดเบาๆอีก 10 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นในน้ำเย็นเป็นเวลา 5 นาที

10. เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (30 % w/v) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วค่อยๆ เติมด้วย 25 มิลลิลิตร ของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 3 โมลาร์ อาจเติม isopentanol ลงไป 2-3 หยด เพื่อป้องกันการเกิดฟอง

11. เมื่อไม่มีฟองเกิดขึ้นแล้วนำไปไตเตรต กับสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนกระทั่งสารละลายไม่มีสี จึงเติมน้ำแป้ง (ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตรต่อน้ำหนัก) ลงไป 2-3 มิลลิลิตร แล้วไตเตรตต่อจนกระทั่งสารละลายไม่มีสี ปริมาตรที่ได้เท่ากับ x มิลลิลิตร

12. ไตเตรตสารละลาย blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่าง แล้วปฏิบัติเช่นเดียวกับสารละลายตัวอย่าง ปริมาตรที่ได้เท่ากับ y มิลลิลิตร

13. เมื่อนำปริมาตร y-x จะเป็นปริมาตรของสาร copper II ที่ถูกรีดิวซ์ด้วยน้ำตาลในสารตัวอย่าง ซึ่งสามารถเปิดเทียบค่าได้จากตารางภาคผนวก

14. คำนวณค่าร้อยละของน้ำตาลกลูโคส (ในรูปของน้ำตาลอินเวอร์ท)

3.2 การหาปริมาณน้ำตาลซูโครสด้วยวิธี Luff-Schoorl

1. นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 4 ของการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มา 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1:1 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร ในน้ำกลั่น) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงไปผสม

3. นำขวดปรับปริมาตรไปวางในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. เอาออกมาวางไว้ให้เย็น แล้วเติมฟีนอฟทาลีนลงไป 2-3 หยด

5. ไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 6 นอร์มอล เมื่อใกล้จุดยุติเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.5 นอร์มอลลงไป ปริมาณเล็กน้อย เขย่าขวดจนกระทั่งสีแดงของสารละลายหายไป

6. ทำการเจือจาง และปรับปริมาตรของสารละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วเขย่าเพื่อให้เกิดการผสมกัน

<u>วิธีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลซูโครส</u>

1. นำสารละลายที่เตรียมได้จากก่อนและหลังการย่อยด้วยกรด มาเจือจางให้มีน้ำตาลรีดิวซ์ประมาณ 15-60 มิลลิลิตร ต่อ 25 มิลลิลิตรของสารตัวอย่าง

2. ใส่สารละลาย Luff-Schoorl ลงไปในฟลาส์กขนาด 300 มิลลิลิตร 2 ใบ ปริมาตรใบละ 25 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เติมสารละลายตัวอย่างที่เจือจางแล้วปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงไป โดยฟลาส์กใบแรกเติมสารละลายตัวอย่างก่อนการย่อยสลายด้วยกรด และใบหลังเติมสารละลายตัวอย่างที่ได้หลังจากการย่อยสลายด้วยกรด

4. ใส่ antifoam-chip ลงในฟลาส์ก

5. ทำการ reflux โดยปรับอุณหภูมิให้สารละลายเดือดเป็นเวลา 2-3 นาที แล้วลดอุณหภูมิของการ reflux ลงไป ปล่อยทิ้งไว้ให้เดือดเบาๆอีก 10 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นในน้ำเย็นเป็นเวลา 5 นาที

6. เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (30 % w/v) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วค่อยๆ เติมด้วย 25 มิลลิลิตร ของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 3 โมลาร์ อาจเติม isopentanol ลงไป 2-3 หยด เพื่อป้องกันการเกิดฟอง

7. เมื่อไม่มีฟองเกิดขึ้นแล้วนำไปไตเตรต กับสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนกระทั่งสารละลายไม่มีสี จึงเติมน้ำแป้ง (ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก) ลงไป 2-3 มิลลิลิตร แล้วไตเตรตต่อจนกระทั่งสารละลายไม่มีสี ปริมาตรที่ได้เท่ากับ x มิลลิลิตร

8. ไตเตรตสารละลาย blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่าง แล้วปฏิบัติเช่นเดียวกับสารละลายตัวอย่าง ปริมาตรที่ได้เท่ากับ y มิลลิลิตร

9. เมื่อนำปริมาตร y-x จะเป็นปริมาตรของสาร copper II ที่ถูกรีดิวซ์ด้วยน้ำตาลในสารตัวอย่าง ซึ่งสามารถเปิดเทียบค่าได้จากตารางภาคผนวก

10. คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์(ร้อยละน้ำตาลรีดิวซ์) ในรูปน้ำตาลอินเวอร์ทที่ไตเตรตได้จากสารละลาย ทั้งก่อนและหลังการย่อยสลายน้ำตาลด้วยกรด

11. คำนวณหาปริมาณน้ำตาลซูโครส ในตัวอย่าง เมื่อกำหนดให้

BI = ค่าร้อยละของน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนการย่อยสลายน้ำตาลด้วยกรดในรูปน้ำตาลอินเวอร์ท

TI = ค่าร้อยละของน้ำตาลรีดิวซ์หลังการย่อยสลายน้ำตาลด้วยกรดในรูปน้ำตาลอินเวอร์ท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำตาลซูโครสคำนวณได้จากสูตร

ร้อยละน้ำตาลซูโครสในตัวอย่าง = (TI - BI) x 0.95

4. การหาปริมาณไขมัน(A.O.A.C., 1990)

สารเคมีและอุปกรณ์

- ชุดสกัดไขมันประกอบด้วย ขวดใส่ตัวทำละลาย soxhlet เครื่องควบแน่น และเตาให้ความร้อน
- หลอดใส่ตัวอย่าง
- ปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีการวิเคราะห์

1. อบขวดก้นกลมที่ใช้สำหรับหาปริมาณไขมัน ที่มีขนาด 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้า ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งสารตัวอย่าง บนกระดาษที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน ถ้าเป็นตัวอย่างสารที่มีไขมันมากให้ชั่ง 1-2 กรัม แต่หากตัวอย่างที่มีไขมันน้อยให้ชั่ง 3-5 กรัม ห่อให้มิดชิด แล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่างคลุมด้วยใยแก้วหรือสำลีเพื่อให้สารตัวทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ
3. นำหลอดตัวอย่างใส่ใน soxhlet
4. เติมสารตัวทำละลาย ปิโตรเลียมอีเทอร์ ลงในขวดหาปริมาณไขมันประมาณ 150 มิลลิลิตร หลังวางลงบนเตา
5. ประกอบชุดอุปกรณ์สกัดไขมัน พร้อมกับเปิดอุปกรณ์ควบแน่น และเปิดสวิตช์ให้ความร้อน
6. ใช้เวลาในการสกัดไขมันนานประมาณ 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารตัวทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่น ด้วยอัตราเร็ว 150 หยดต่อนาที
7. เมื่อครบ 14 ชั่วโมง นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจาก soxhlet และกลั่นเก็บสารตัวทำละลายจนเหลือสารในขวดกลมเพียงเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. นำขวดหาไขมันที่ได้ไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้ง ใช้เวลาประมาณ 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

9. ชั่งน้ำหนัก และอบซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนัก 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

10. คำนวณหาปริมาณไขมันในตัวอย่างจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน(ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{100 \times \text{น้ำหนักไขมันหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

5. การหาปริมาณกรดแลคติกโดยการวัดสี(Barber & Summerson, 1941)

สารเคมี

- sulphuric acid A.R. grade
- ผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์ A.R. grade
- colour reagent เตรียมโดยละลาย 1.5 กรัมของ *p*-hydroxybiphenyl ในสารละลาย 0.5 % NaOH ปริมาณ 10 มิลลิลิตร
- สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตความเข้มข้นร้อยละ 4 และความเข้มข้นร้อยละ 20
- สารละลายมาตรฐาน เตรียมโดยเติมสารลิเทียมแลคเตท ปริมาณ 213 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อย แล้วเติมกรดซัลฟุริก 0.5 มิลลิลิตร ทำสารละลายให้เจือจางเป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ปริมาณของกรดแลคติกสุดท้ายจะมีค่า 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างโกโก้ 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นลงไป 50 มิลลิลิตร ปิดฝาต้มให้เดือดนานประมาณ 30 นาที
2. กรองของผสมผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ด้วยเครื่องกรองสูญญากาศ
3. เจือจางสารละลายให้มีปริมาณกรดแลคติกอยู่ในช่วง 10-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
4. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เจือจางเหมาะสม 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.เติมสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร

6. เติมผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์ลงไป 1 กรัม และเขย่าอย่างแรง ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไปเหวี่ยงแยก

7. ปิเปตสารละลายส่วนใสปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

8. เติมสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตความเข้มข้น ร้อยละ 4 ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตรลงไป

9.เขย่าพร้อมกับเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ปริมาณ 3 มิลลิลิตร ลงไป และเขย่าอีกครั้ง

10. วางในเครื่องอังน้ำเดือดเป็นเวลา 7 นาที แล้วทำให้อุณหภูมิลดลงถึง 20 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำแข็ง

11. เติมสาร colour reagent ลงไป 0.1 มิลลิลิตร

12. เขย่า และตั้งไว้ใน waterbath อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

13. นำมาเขย่าแล้วตั้งไว้ใน waterbath อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอีกไม่น้อยกว่า 15 นาที แล้วนำหลอดไปวางในน้ำเดือดนาน 1.5 นาที เพื่อละลายตะกอน

14. ทำให้เย็นโดยผ่านน้ำก๊อก แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (สีที่ปรากฏจะมีความคงตัวในระยะเวลาสั้นๆ)

15. เตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลายลิเทียมแลคเตท

16. เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานแล้วคำนวณปริมาณกรดแลคติก

6. การหาปริมาณกรดทั้งหมด(A.O.A.C., 1990)

สารเคมี

- สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล
- ฟีนอฟทาลีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการวิเคราะห์

1.นำตัวอย่างเยื่อหุ้มหรือเมล็ดโกโก้มา 5 กรัม เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร

2. ผสมให้เข้ากันโดยการปั่นผสมด้วยเครื่องปั่น เป็นเวลา 5 นาที อาจต้องกรองเอาตะกอนออกหากมีตะกอนมาก

3. ไตเตรต สารละลายกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล หาจุดยุติ มีฟีนอฟทาลีน เป็นอินดิเคเตอร์

4. คำนวณปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก จากสูตร

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก(\%)} = \frac{\text{ไตเตรต} \times N \times 64 \times 100}{\text{มิลลิลิตรของสารตัวอย่าง} \times 100}$$

7. การหาปริมาณของกรดที่ระเหยได้ (A.O.A.C., 1990)

สารเคมี

- สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.01 นอร์มอล
- ฟีนอฟทาลีน

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างโกโก้ผงมา 10 กรัม กลั่นด้วยไอน้ำ ให้ได้ปริมาตรของของเหลวที่รองรับได้ 250 มิลลิลิตร

2. ทำการไตเตรตของเหลวที่ได้จากการกลั่นในข้อ 1 ด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.01 นอร์มอล โดยใช้ฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

3. คำนวนปริมาณกรดที่ระเหยได้ในรูปของกรดอะซิติก

1 มิลลิลิตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 นอร์มอล = 0.006 กรัมกรดอะซิติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. การทำ Cut Test (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก และคณะ, 2534; Wood and Lass, 1985)

วิธีการ

สุ่มตัวอย่างเมล็ดโกโก้ที่ผ่านการหมักและการทำแห้งแล้วมา 200 เมล็ด ใช้มีดผ่าตามยาวของเมล็ด (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง) แล้วแบ่งกลุ่มเมล็ดโกโก้ที่ผ่าแล้ว ออกเป็น 4 กลุ่ม

1. เมล็ดที่ผ่านการหมักอย่างสมบูรณ์ : สีภายในของเมล็ดโกโก้จะมีสีน้ำตาล
2. เมล็ดที่มีสีน้ำตาลบางส่วน และมีสีม่วงบางส่วน : ลักษณะของเมล็ดโกโก้บางส่วนมีสีน้ำตาลและมีสีม่วงกระจายเป็นจุดๆ
3. เมล็ดที่ผ่านการหมักไม่สมบูรณ์ : เมล็ดมีสีหินชนวน
4. เมล็ดที่มีสีอื่นๆ และเมล็ดที่ถูกทำลายโดยแมลง

9. การหาปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 1990)

วิธีการวิเคราะห์

1. นำภาชนะอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด ไปอบในตู้อบ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ประมาณครึ่งชั่วโมง ชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมฝา (W_1)
2. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (0.5 กรัม) ใส่ลงในภาชนะที่ชั่งน้ำหนักแล้ว เกลี่ยให้เนื้อสารกระจาย ปิดฝาและชั่งน้ำหนักอีกครั้ง (W_2)
3. นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส โดยให้ฝาภาชนะปิดไว้บางส่วน อบทิ้งไว้ข้ามคืน (ประมาณ 16-18 ชั่วโมง)
4. นำภาชนะดังกล่าวออกจากตู้อบ ปิดฝา แล้วนำไปใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้จนเย็นชั่งน้ำหนักอีกครั้ง (W_3)
5. คำนวนร้อยละของความชื้นในสารตัวอย่าง = $\frac{(W_2 - W_1)-(W_3-W_1)}{(W_2-W_1)}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

W_1 = น้ำหนักภาชนะอลูมิเนียม (กรัม)

W_2 = น้ำหนักภาชนะอลูมิเนียมรวมกับน้ำหนักตัวอย่างที่ไม่ผ่านการอบ (กรัม)

W_3 = น้ำหนักภาชนะอลูมิเนียมรวมกับน้ำหนักตัวอย่างที่ผ่านการอบ (กรัม)

10. การหาค่า sensory test

1. นำเมล็ดโกโก้แห้งมาอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นแกะเยื่อหุ้มเมล็ดออกแล้ว ปั่นเมล็ดโกโก้ให้ละเอียดมากที่สุดเท่าที่จะทำได้

2. ชั่งโกโก้ปั่น 5 กรัม ชงกับน้ำร้อน 250 มิลลิลิตร แล้วคนกลิ่นและชิมรสของโกโก้ โดยใช้ผู้ชิมจำนวน 10 คน บันทึกผลเปรียบเทียบลงบนตาราง sensory test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ตารางการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 1 ความแตกต่างของอุณหภูมิในกองหมักเมล็ดโกโก้

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการหมัก (วัน)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
control	30 a	31 a	32.5 a	39.13 a	41.25 a	41 a	41 a	40 a
5%	30 a	34 b	36.25 b	46.25 b	43.5 b	41 a	40 a	40.5 a
10%	30 a	34.75 b	34 a	45.1 b	44.5 b	42.5 a	41.5 a	40 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

ตารางภาคผนวกที่ 2 ความแตกต่างของน้ำตาลกลูโคสในเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมัก

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการหมัก (วัน)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
control	0.34 a	0.11 a	0.25 a	0.37 a	0.22 a	0.19 a	0.12 a	0.14 a
5%	0.34 a	0.14 a	0.23 a	0.26 a	0.26 a	0.07 a	0.12 a	0.16 b
10%	0.34 a	0.16 a	0.19 a	0.39 a	0.2 a	0.12 a	0.07 a	0.02 c

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 3 ความแตกต่างของปริมาณน้ำตาลกลูโคสในเยื่อหุ้มเมล็ดที่พบระหว่างการหมัก

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการหมัก (วัน)				
	0	1	2	3	4
Control	0.8 a	0.54 a	0.43 a	0.35 a	0.21 a
5%	0.8 a	0.21 b	0.18 b	0.07 b	0.09 a
10%	0.8 a	0.26 b	0.2 b	0.19 c	0.15 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

ตารางภาคผนวกที่ 4 ความแตกต่างของน้ำตาลซูโครสในเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมัก

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการหมัก (วัน)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
control	0.191 a	0.085 a	0.101 a	0.101 a	0.101 a	0.072 a	0.059 a	0.061 a
5%	0.191 a	0.016 b	0.016 b	0.015 b	0.015 b	0.014 b	0.012 b	0.011 b
10%	0.191 a	0.028 c	0.028 b	0.025 c	0.025 c	0.023 b	0.023 c	0.021 c

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 5 ความแตกต่างของน้ำตาลซูโครสของเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมัก

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการหมัก (วัน)				
	0	1	2	3	4
Control	0.95 a	0.085 a	0.04 a	0.134 a	0.10 a
5%	0.95 a	0.093 a	0.014 b	0.054 b	0.059 a
10%	0.95 a	0.03 b	0.029 a	0.065 c	0.115 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

ตารางภาคผนวกที่ 6 ความแตกต่างของปริมาณกรดแลคติกในเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมัก

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการหมัก (วัน)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
control	0.001 a	0.002 a	0.012 a	0.022 a	0.038 a	0.059 a	0.059 a	0.069 a
5%	0.001 a	0.004 a	0.011 a	0.019 a	0.032 a	0.043 b	0.049 a	0.05 a
10%	0.001 a	0.003 a	0.01 a	0.02 a	0.033 a	0.047 b	0.051 a	0.059 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 7 ความแตกต่างของปริมาณกรดที่ระเหยได้ (กรดอะซิติก)ในเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมัก

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการหมัก (วัน)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
control	0.03 a	0.35 a	0.46 a	0.61 a	0.53 a	0.41 a	0.11 a	0.07 a
5%	0.03 a	0.25 b	0.32 a	0.52 a	0.45 a	0.35 a	0.21 a	0.04 a
10%	0.03 a	0.27 b	0.37 a	0.54 a	0.41 a	0.37 a	0.12 a	0.09 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

ตารางภาคผนวกที่ 8 ความแตกต่างของค่าดรรชนีการหมักของเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมัก

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการหมัก (วัน)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
control	0.40 a	0.48 a	0.59 a	0.78 a	0.85 a	0.86 a	0.86 a	0.96 a
5%	0.40 a	0.46 a	0.59 a	0.64 b	0.72 b	1.08 b	1.07 b	1.13 b
10%	0.40 a	0.41 a	0.60 a	0.65 b	0.69 b	0.83 a	0.97 c	1.05 c

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 9 ความแตกต่างของค่าความเป็นกรด-ด่างในเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมัก

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการหมัก (วัน)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
control	6.71 a	6.52 a	6.12 a	5.90 a	5.80 a	5.13 a	5.10 a	5.03 a
5%	6.71 a	6.49 a	6.30 b	6.15 b	6.15 a	6.10 b	5.96 b	6.15 b
10%	6.71 a	6.49 a	6.30 b	6.12 b	6.13 a	6.10 b	5.86 b	5.56 c

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

ตารางภาคผนวกที่ 10 ความแตกต่างของค่าความเป็นกรด-ด่างในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมัก

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการหมัก (วัน)				
	0	1	2	3	4
Control	4.27 a	4.10 a	4.32 a	4.55 a	4.80 a
5%	4.27 a	3.95 a	4.66 b	4.77 b	5.10 b
10%	4.27 a	4.15 a	4.48 c	4.87 b	5.42 c

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 11 ความแตกต่างของปริมาณกรดทั้งหมด (กรดซิตริก)ในเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมัก

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการหมัก (วัน)							
	0	1	2	3	4	5	6	7
control	0.014 a	0.028 a	0.035 a	0.041 a	0.048 a	0.092 a	0.082 a	0.084 a
5%	0.014 a	0.034 a	0.038 a	0.041 a	0.042 a	0.043 b	0.046 b	0.017 b
10%	0.014 a	0.046 b	0.046 b	0.047 a	0.051 a	0.052 b	0.064 c	0.023 b

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

ตารางภาคผนวกที่ 12 ความแตกต่างของค่าความเป็นกรดทั้งหมด(กรดซิตริก) ในเยื่อหุ้มเมล็ดโกโก้ระหว่างการหมัก

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการหมัก (วัน)				
	0	1	2	3	4
Control	0.059 a	0.065 a	0.077 a	0.019 a	0.031 a
5%	0.059 a	0.082 b	0.034 b	0.028 a	0.025 a
10%	0.059 a	0.064 a	0.039 b	0.031 b	0.023 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 13 ความแตกต่างของปริมาณความชื้นของเมล็ดโกโก้ก่อนการหมักและหลังการหมัก

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการหมัก (วัน)	
	ก่อนการหมัก	หลังการหมัก
control	0.349 % a	0.046 % a
5%	0.349 % a	0.043 % a
10%	0.349 % a	0.051 % a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างกันทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

ตารางภาคผนวกที่ 14 ความแตกต่างของปริมาณไขมันในเมล็ดโกโก้ก่อนและหลังการหมัก

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการหมัก (วัน)	
	ก่อนการหมัก	หลังการหมัก
control	15.07 % a	17.58 % a
5%	15.07 % a	19.07 % b
10%	15.07 % a	17.00 % a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างกันทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 15 แสดงการประเมินผลการยอมรับโกโก้ที่ผ่านการหมักด้วยเชื้อ Saccharomyces cerevisiae

ชุดการทดลอง	กลิ่น				รสชาติ		
	กลิ่นกรด	กลิ่นควัน	กลิ่นหืน	กลิ่นโกโก้	รสเปรี้ยว	รสฝาด	รสโกโก้
ชุดควบคุม	3.7 b	4.5 a	5.2 a	6.3 b	5.3 a	3.3 a	5.9 b
ร้อยละ 5	4.5 a	4.5 a	4.9 a	5.2 a	4.3 a	3.0 a	3.7 a
ร้อยละ 10	3.5 b	5.0 a	4.9 a	6.2 b	4.6 a	4.3 a	5.8 b

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างกันทางนัยสำคัญ $P < 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กสิกรไทย, ธนาคาร. โกโก้: พืชเศรษฐกิจที่น่าสนใจ. สรุปข่าวธุรกิจ (กสิกรไทย), 22 (5) : 3-7.

นิยม กำลังดี. 2537. การเปลี่ยนแปลงทางจุลินทรีย์และชีวเคมี ในระหว่างการหมักเมล็ดโกโก้ด้วยเชื้อยีสต์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ดวงใจ ช่วยสถิตย์. 2535. การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ระหว่างการหมักโกโก้. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ประพันธ์ บุญกลิ่นขจร, ศรี ปียะพงศ์, เชิญ ด่าวดัก, โกวิทย์ ยันตศาสตร์, เกรียงศักดิ์ ศิริพงษาโรจน์ และ สุมาลัย ศรีกำไลทอง. 2529. เกษตรและอุตสาหกรรมโกโก้. สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย กรุงเทพฯ.

ผานิต งานกรณาธิการ. 2532. พันธุ์โกโก้. เอกสารประกอบการประชุมเรื่องโกโก้กับการพัฒนาอุตสาหกรรม, 31 มกราคม 2532 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ.

ผานิต งานกรณาธิการ และวิทย์ สุวรรณวุธ. 2531. บทบาทของโกโก้ในทศวรรษหน้า เอกสารประกอบการสัมนาเรื่อง พืชเศรษฐกิจยืนต้น, 23-25 พฤศจิกายน 2531. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, กนก ติระวัฒน์, ไพศาล วุฒิจำนงค์, เสาวลักษณ์ จิตรบรรจงจิตกุล, พรชัย ศรีไพบูลย์, มนัส ชัยสวัสดิ์, สมชาย สุคนธสิงห์, เสริมศักดิ์ ชื่นเจริญ และ ปิยนุช นาคะ. 2534. โครงการวิจัยและพัฒนากรรมวิธีแปรรูปเมล็ดโกโก้แห้ง. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. หน้า 1-193.

ยอดยิ่ง คงทอง. 2529. ภาวะการค้าต่างประเทศของโกโก้. รายงานสัมมนาเรื่องโกโก้พืชความหวังใหม่. กรมส่งเสริมการเกษตร, มิถุนายน 2529. หน้า 33-35.

วิทย์ สุวรรณวุธ. 2527. การพัฒนาโกโก้ในประเทศไทย. รายงานสัมนาเรื่องมะพร้าวและโกโก้, 19-23 กรกฎาคม 2527. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. หน้า 41-44.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2534. ภาวะเศรษฐกิจการเกษตร. ข่าวเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 34(376):15-17.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A.O.A.C. 1990. Official method of analysis of the association of analytical chemist.14th ed. Association of official analytical chemist, USA.

Abdul Samah, O., Fared Putih, M., Selamat, J. and Alimon, H. 1993. Fermentation product in cocoa beans inoculated with *Acetobacter xylinum*. ASEAN Food J. 86(1) : 22-25.

Barber, S. B. and Summerson, W. M. 1941. Analytical of lactic acid in fruits. J. Biol. Chem. 138: 535.

Berbert, P. R. F. 1979. Contribuicao para o conhecimento dos acucares componentes da amedoa e do mel de cacau. Revista Theobroma. 9: 955.

Biehl, B. and Passern, D. 1982. Proteolysis during fermentation-like incubation of cocoa seeds. J. Sci. Food Agric. 33 : 1280-1290.

Biehl, B., Brunner, E., Passern, D., Quesnel, V. C. and Adomako, D. 1985. Acidification, Proteolysis and flavour potential in fermenting cocoa beans. J. Sci. Food Agric. 36 : 583-598.

Biehl, B., Meyer, Crone, G. and Pollman, L. 1989. Chemical and physical changes in the pulp during ripening and postharvest storage of cocoa pods. J. Sci. Food Agric. 48: 189-208.

Biehl, B., Passern, D. and Sagemann, W. 1982. Effect of acetic acid on subcellular structure of cocoa bean cotyledons. J. Sci. Food Agric. 33 : 1101-1109.

Biehl, B. and Passern, D. 1977. Subcellular structures is fermenting cocoa beans-effect of aeration and temperature during seed and fragment incubation. J. Sci. Food Agric. 28 : 41-45 .

Biehl, B., Wewetzer, C. and Passern, D. 1982. Vacuolar (storage) proteins of seeds and their degradation during germination and fermentation. J. Sci. Food Agric. 33 : 1291.

Carr, J.G. 1985. Tea,coffee,cocoa. In microbiology of fermented of food vol. 2 wood , B. J. B. Elsevier Applied Science Publishers, London. P. 145-152.

Carr, J. G., Davies, P. A. and Dougan. 1979. Cocoa Fermentation in Ghana and

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Malaysia. University of Bristol Research Station, Long Ashton, Bristol and Tropical Products Institute, Gray's Inn Road, London: University of Bristol.

Carr, J. G., Davies, P. A. and Dougan. 1980. Cocoa Fermentation in Ghana and Malaysia. Part II. Further microbiological methods and results. Ghana: The Cocoa Research Institute.

Carr, J. G., Davies, P. A. and Dougan. 1981. Cocoa Fermentation in Ghana and Malaysia. Proc. Conference International surla Recherche Caoyere, Teme, Douala, Cameroun, Actes. London: J. de Lafforest and Transla-Inter Limited. 573.

Chong, C. F., Shepherd, R. and Poon, Y. C. 1978. Mitigation of cocoa bean acidity-fermentary investigations. Proc. Int. Conf. on Cocoa and Coconuts, Kuala Lumpur, Malaysia. 387-414.

De Camargo, R., Leme, J. and Martinelli, A. 1963. General observations on the microflora of fermenting cocoa beans in Bahia (Brazil). Food Technol. 19: 116-117.

Dougan, J. 1980. Methods for the Analysis of Cocoa Pulp and Cotyledons. London: Tropical Products Institute.

Dougan, J., Duncan, R. J. E., Jardine, Robinson, Simmons, P. M. and Woodage,C. 1981. The Relationship Between Oxygen, Temperature, Acetic Acid and Lactic Acid During Cocoa Fermentation. London: Cocoa Chocolate and Confectionery Alliance.

Egan, H., Rick, R. S. and Sawyer, R. 1981. Pearson's chemical analytical of food. 8th ed. Edinburgh, Churchill Livingstone.

Forsyth, W. G. C. and Quesnel, V. C. 1957. Variations in cocoa preparation.VI. Conf. Interam. de Cacau Salvador, Bahia. cited by Wood, G. A. R. and Lass. 1985. Cocoa, 4th ed, Tropical Agriculture Series, Longman, New York. 157-168.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gourieva, V. B. and Tserevitinov. 1979. Method of evaluating the degree of fermentation of cocoa beans. USSR. State Committe on Invention and Discoveries, UDC 911. 13.

Hancock, B. L. 1949. Quality in cocoa. Trinidad Rep. Cocoa Conf, London. 75-79. cited by Wood, G. A. R. and Lass. 1985. Cocoa, 4th ed, Tropical Agriculture Series Longman, New York. 461-462.

Hoskin, J. C. and Dimick, P. S. 1984. Role of non-enzymatic browning during the processing of chocolate flavour: A Review. Proc. Biochem. 19 (3): 92.

Howat, G.R., Powell, B.D. and Wood, G.A.R. 1957. Experiments on cocoa fermentation. J. Sci Food Agric. 8(2) : 65.

Jinap, S. and Dimick, P.S. 1990. Acidic characteristics of fermented and dried cocoa beans from different origins. J. Food Sci. 55(2) : 547-550.

Jinap, S. and Dimick, P.S. 1991. Effect of roasting on acidic characteristics of cocoa beans from different origins. J. Sci Food Agric. 54 : 317-321.

Jinap, S. and Danker, R.M. 1993. Effect of clone and temperature on acetic acid diffusion and death of cocoa bean. J. Asean Food 8(4) : 139-143.

Jinap, S. 1994. Effect of drying on acidity and volatile fatty acids content of cocoa beans. J. Asean Food 8(4) : 15-17.

Jinap, S. 1994. Organic acids in cocoa bean a review. J. Asean Food 9(1) : 3-12.

Keeney, P. G. 1972. Various interactions in chocolate flavour. J. Am. Oil Chem. Soc. 49 (10): 567.

Knapp, A. W. 1926. Experiment in the fermentation of cocoa. J. Soc. Chem. Ind. 45 : 140-142. cited by Wood, G. A. R. and Lass. 1985. Cocoa, 4th ed, Tropical Agriculture Series, Longman, New York.

Lehrian, D. W. and Patterson, G.R. 1983. Cocoa fermentation on Biotechnology. Weinheim: Verlag Chemie. Food and Feed Production with Microorganisms. Rehm, H. J. and Reed, G. 5:531-575.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lopez, A. and Quesnel, V. C. 1973. Volatile fatty acid production in cocoa fermentation and effect on chocolate flavour. J. Sci. Food Agric. 24 : 319-326.

Lopez, A. S. 1983. Factors associated with cocoa bean acidity and the possiblity of its reduction by improved fermentation. Revista Theobroma. 13(3):344.

Maravalhas, N. 1966. Microbiological deterioration of cocoa beans during fermentation and storage in Bahia. Rev. Int. Choc. 21 (8): 375.

Offem, J. O. 1990. Individual variation in the amino acid and chemical composition of defatted cocoa bean meal of three variaties of cocoa (Theobroma cocoa) from South-eastern Nigeria. J. Sci. Food Agric. 52 : 129-135.

Ostovar, K. and Keeney, P. G. 1973. Isolation and characterization of microorganisms involved in the fermentation of Trinidad's cocoa beans. J. Food Sci. 38 : 11-61.

Packiyasothy, E. V., Jansz, Sennanayake, U. M., Wickremasinghe, P. 1981. Effect of maturity on some chemical components of cocoa. J. Sci. Food Agric. 32: 873-876

Passos, F. M. L., Solva, D. O., Lopez, A., Ferreira, C. L. L. F. and Guimaraes, W. V. 1984. Characterization and distribution of lactic acid bacteria from traditional cocoa bean fermentations in Bahia (Brazil). J. Food Sci. 49(1) : 205-208.

Quesnel, V.C. 1965. Agents inducing the death of cocoa seeds during fermentation. J. Sci. Food Agric. 16 : 441-447.

Ravelomanana, R., Guiraud, J. and Galzy, P. 1986. Isolation of a pectin-utilizing yeast from cocoa beans. system. Appl. Microbiol. 8:230-233

Roelofsen, P. A. 1958. Fermentation, Drying and Storage of cocoa beans. Adv. Food Res., 8 : 25-296

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rohan, T. A. 1963. Processing of raw cocoa for the market. FAO Agricultural Studies No. 60. Rome: FAO.

Rohan, T. A. 1964. Precursors of chocolate aroma. A comparative study of fermented and unfermented cocoa beans. J. Food Sci. 29 : 456-459.

Rohan, T. A. and Stewart, T. 1964. The volatile and non-volatile acids of cocoa beans. Rev. Int. Choc. 19 (11): 503.

Rohan, T. A. and Stewart, T. 1967. Precursors of chocolate aroma : Production of free amino acids during fermentation of cocoa beans. J. Food Sci. 32 : 395.

Romboute, J. E. 1952. Observation on the microflora of fermenting cocoa beans in Trinidad Proc. Soc. Bacteriol. 15: 111-130.

Said, M. B. and Samarakhody, R. J. 1984. Cocoa fermentation: Effect of surface area, frequency of turning and depth of cocoa masses. International conference on cocoa and coconut.

Samah,O.A., putih, M. F. and Selamat , J. 1992. Biochemical changes during fermentation of cocoa beans inoculated with *Saccharomyces cerevisiae* (wild strain). J. fd. Sci. Technol. 29 : 341-343.

Weissberger, W., Kavanah, T. E. and Keeney, P. G. 1971. Identification and quantitation of several nonvolatile organic acid of cocoa beans. J. Food Sci. 36 : 877-897.

Wood, G. J. B. and Lass, R.A. 1985. Cocoa, 4th ed, Tropical Agriculture Series. Longman, New York.

Wood, G. A. R. 1975. Fermentation and drying. Cocoa Growers Bull. 18: 25-29.

Zak, D. K., Ostovar, K. and Keeney, P. G. 1972. Implication of ***Bacillus subtilis*** in the synthesis of tetramethylpyrazine during fermentation of cocoa beans. J. Food Sci. 37 : 967-968.

Zak, D. K. and Keeney, P. G. 1976. Extraction and fractionation of cocoa protein as applied to serveral varieties of cocoa beans. J. Agric. Food Chem. 24(3) : 479-482.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้