บทความวิจัย

ปีที่ 1 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2565

วารสาร มรภ.กพ. วิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์ และเทคโนโลยี

Journal of KPRU Science Mathematics and Technology

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเพื่อหาอัตลักษณ์ของโกโก้ในจังหวัดเชียงราย

Chemical Composition Analysis to Determine the Identity of Cocoa in Chiang Rai Province

วลีพรรณ รกิติกุล[1,*], จินดา ศิริตา[1], ปิยดา ยศสุนทร[1], ธนายุทธ ช่างเรือนงาม[2], สุรัสวดี นางแล[2]

[1] โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย เชียงราย 57100

[2] โปรแกรมวิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย เชียงราย 57100

Waleepan Rakitikul[1,*], Jinda Sirita[1], Piyada Yodsuntorn[1], Thanayut Changruanngam[2], Surusawadee Nanglae[2]

[1] Program of Physical Science, Faculty of Science and Technology, Chiang Rai Rajabhat University, Chiang Rai 57100

[2] Program of Mathmatics, Faculty of Science and Technology, Chiang Rai Rajabhat University, Chiang Rai 57100

บทคัดย่อ

การศึกษาข้อมูลองค์ความรู้การผลิตเพื่อหาอัตลักษณ์ของโกโก้ในจังหวัดเชียงราย มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจข้อมูลพื้นฐานที่เกี่ยวข้องกับการปลูกโกโก้ในจังหวัดเชียงราย สำหรับการศึกษาความเหมาะสมของพื้นที่ในการปลูกโกโก้ของจังหวัดเชียงราย พบว่าปัจจัยด้านศักยภาพของดินมีค่าน้ำหนักมากที่สุด ซึ่งจากผลการวิเคราะห์คุณภาพดินของแหล่งปลูกโกโก้จากสวนตัวอย่าง ลักษณะทางกายภาพของดินเป็นดินร่วนสีน้ำตาลเข้ม ดินค่อนข้างแห้ง ค่า pH อยู่ในช่วงเหมาะสมต่อการเพาะปลูกโกโก้ ปริมาณสารอินทรีย์วัตถุของสวนโกโก้มีค่าค่อนข้างต่ำ ดังนั้นควรมีการบำรุงดินอย่างสม่ำเสมอ ผลการตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา ในโกโก้ตามขั้นตอนการแปรรูปใน เมล็ดโกโก้ดิบ เมล็ดโกโก้หลังหมัก เมล็ดโกโก้หลังคั่ว และผงโกโก้ พบว่าผ่านเกณฑ์มาตรฐาน และไม่มีการปนเปื้อนของ Escherichia coli ในทุกตัวอย่างที่นำมาทดสอบ รวมถึงไม่พบสารพิษโอคราท็อกซิน เอ ในตัวอย่าง สำหรับองค์ประกอบทางด้านเคมี พบ

* Corresponding author : em_waleepan_r@crru.ac.th

Received : 10/03/2022 Revised : 08/06/2022 Accepted : 17/06/2022

ว่า มีค่า pH อยู่ในช่วงของกรดอ่อนถึงกลาง (pH 5.22 – 7.19) แต่ถือว่าเป็นเมล็ดโก้โก้ที่มีค่า pH สูงที่อาจเกิดจากกระบวนการหมักที่นานเกินไปทำให้กลิ่น-รส ผิดปกติ มีการผลิตกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ คือ lauric (C-12), oleic (C-16) และ palmitic (C-18) นอกจากนี้พบว่าปริมาณกรดอินทรีย์ที่ส่งผลต่อกลิ่น-รส คือกรดซิตริกและอะซิติก สอดคล้องกับปริมาณที่พบในสารอินทรีย์ระเหยได้ และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในเมล็ดโกโก้คั่วนั้นมีปริมาณมากที่สุดเนื่องจากผ่านกระบวนการหมักและคั่วแต่ยังไม่มีการบีบโกโก้บัตเตอร์ออก ทั้งนี้เมื่อพิจารณาอะมิโนโปรไฟล์และสารประกอบอินทรีย์ระเหยได้ พบว่าปริมาณของแอสปาร์ติกและกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ ทำให้เกิดสารประกอบแอลดีไฮด์เพิ่มขึ้นในผงโกโก้ ส่งผลให้มีกลิ่น-รสของช็อกโกแลตเพิ่มขึ้นในผงโกโก้มากกว่าในโกโก้ดิบ จากการวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ในสวนตัวอย่าง 1 ซึ่งเป็นการปลูกพืชโกโก้ร่วมกับการปลูกพืชอื่น ๆ ได้แก่ ลูกหม่อน เชอรี่ ข้าวดอย กระเจี๊ยบ บ๊วย และมีการเพาะเลี้ยงผึ้งเพื่อเก็บน้ำผึ้ง จะทำให้ได้โกโก้ที่มีรสชาติหรือกลิ่นหอมของดอกไม้ (Floral) และน้ำผึ้ง (Honey) ผสมกับความเปรี้ยวของผลไม้อยู่ด้วยจากสารประกอบกลุ่ม aldehyde ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของกลิ่นและรสชาติช็อกโกแลต หรือโกโก้ของสวนตัวอย่าง 1

คำสำคัญ : โกโก้, องค์ประกอบของโกโก้, องค์ความรู้

Abstract

A study of production knowledge database about cocoa in Chiangrai province aims to survey the basic information of cocoa growing in Chiangrai province. For the study of the land suitability of cocoa in Chiang Rai Province, the estimation of soil potential is the most important part. The results of soil quality analysis of cocoa plantations from the sample plantations shown that the soil characteristics was dark brown and the moisture in soil at low level making the soil dry. The pH range was in the suitable condition for cocoa planting and the organic substances was at low level. In the case of cocoa planting, should frequently maintain the nutrients in soil. The results of total microbial such as yeast and fungi in cocoa in the production process in raw cocoa seed, fermented cocoa, roasted cocoa and powdered cocoa have been investigated in the level of standard pass. Moreover, contamination of Escherichia coli and Ochratoxin A were not found in all samples. The result of chemical composition study depicted pH range between 5.22 – 7.19. This was identified as high pH level cocoa according to the longer fermentation. Therefore, it's getting abnormal taste and odor and cause the production of low molecular weight of lipid including lauric (C-12), oleic (C-16) and palmitic (C-18) by total free lipid acid determination. Moreover, the organic acid such as citric acid can affect the taste and odor relating to the content of volatile organic substances. The contents of reducing sugar found in all samples showed the highest level in the roasted cocoa having passed the fermented and roasted processes without cocoa butter extraction. The investigation of amino profiles and volatile organic substances found contents of aspartic acid and other types of amino acids resulting in the generation of aldehyde enhancement in powdered cocoa, making the

increase of odor and taste comparing with raw cocoa. The analysis of various components in the sample garden 1 is a mixed crops such as mulberry, cherry, rice, krachiab, plum, etc. and bees are bred to collect honey. Thus, it's presents cocoa with a flavor or aroma of flowers (Floral) and honey as aldehyde volatile group shown, mixed with the sourness of the fruit. That is the unique smell and taste of chocolate or cocoa of the sample garden 1.

Keywords : Cocoa, Cocoa composition, Knowledge

ที่มาและความสำคัญ

โกโก้ (Cocoa) จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่เป็นที่ต้องการในตลาดมากขึ้น โดยมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Theobroma cacao L. จัดอยู่ในตระกูล STERCULIACEAE เป็นไม้ผลยืนต้นขนาดกลาง เจริญเติบโตได้ดีในลักษณะภูมิอากาศของประเทศเขตร้อนชื้น (Tropical) ตั้งแต่ประเทศที่ตั้งอยู่ในเขตศูนย์สูตรจนถึงประเทศที่มีอุณหภูมิระหว่าง 15-30 oC และต้องการปริมาณน้ำฝนที่สม่ำเสมอตลอดปี ซึ่งนิยมนำมาแปรรูปเป็นเครื่องดื่มโกโก้และช็อกโกแลต สำหรับประเทศไทยปัจจุบันมี 2 พันธุ์ที่นิยมปลูก ได้แก่ โกโก้พันธุ์ลูกผสมชุมพร 1 และโกโก้พันธุ์ ไอ.เอ็ม.1 โดยโกโก้พันธุ์ลูกผสมชุมพร 1 เป็นโกโก้ลูกผสมระหว่าง Parinari 7 x Nanay 32 (Pa7 x Na32) โดยผลการทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร ตั้งแต่ปี 2524-2536 พบว่า โกโก้ลูกผสมชุมพร 1 เป็นพันธุ์โกโก้ลูกผสมที่ดีทั้งในด้านการให้ผลผลิต และคุณภาพของเมล็ด ซึ่งเหมาะสมกับพื้นที่ปลูกโกโก้ทางภาคใต้ของประเทศไทย ส่วนโกโก้พันธุ์ ไอ.เอ็ม.1 เป็นคู่ผสมระหว่างพันธุ์ ICS กับโกโก้ลูกผสมระหว่างกลุ่ม Criollo และ กลุ่ม Forastero สาย Amelonado ซึ่งมีความโดดเด่นด้านเมล็ดมีขนาดใหญ่และผลผลิตสูง ทนแล้ง คุณภาพเมล็ดมีกลิ่นหอมเมื่อนำไปแปรรูป เป็นสายพันธุ์ที่มาจากการวิจัยและพัฒนาของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ [1] จากข้อมูลของ รศ.ดร.สัณห์ ละอองศรี สาขาไม้ผล ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้ศึกษาพบว่า ประเทศไทยสามารถปลูกโกโก้ปลูกได้เกือบทั้งประเทศ ตลาดช็อกโกแลตที่ใช้โกโก้เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปทั่วโลกมีอัตราการเติบโตปีละ 6% มูลค่ากว่า 3.6 ล้านบาท และที่บริโภคส่วนใหญ่ไม่สามารถปลูกโกโก้ได้ เนื่องจากสภาพภูมิอากาศไม่เหมาะสมจึงถือว่าเป็นโอกาสของประเทศไทย

ประเทศไทยไทยเริ่มมีเกษตรกรให้ความสนใจปลูกโกโก้มากขึ้น โดยพื้นที่เพาะปลูกทั่วประเทศอยู่ที่ 5,464.39 ไร่ และพื้นที่เก็บเกี่ยว 4,090.66 ไร่ ส่วนใหญ่อยู่ในภาคเหนือ คิดเป็นพื้นที่ 3,957.59 ไร่ ซึ่งจังหวัดที่ปลูกมาก คือ น่าน เชียงราย ลำปาง ตาก [2] ประกอบกับปัญหาการปลูกพืชผลทางเกษตรในภาคเหนือในหลายพื้นที่มีการบุกรุกป่าเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากความต้องการผลผลิตมีมาก ในขณะที่ผลตอบแทนเชิงมูลค่าลดลงเรื่อย ๆ สร้างผลกระทบต่อสังคม ทั้งการเผาวัชพืช เผาตอซัง ก่อให้เกิดหมอกควันในทุกฤดูกาลเตรียมเพาะปลูก แนวทางการแก้ไขปัญหาอย่างยั่งยืนคือการขับเคลื่อนโครงการปลูกไม้ผล ไม้ใช้สอย ไม้เศรษฐกิจ เข้าไปในกระบวนการเพาะปลูกตามความเหมาะสมของพื้นที่นั้น ๆ ซึ่งการปลูกต้นโกโก้ก็เป็นอีกหนึ่งพืชทางเลือกที่ถูกนำมาส่งเสริมให้เกษตรกรปลูก [3] จากการสำรวจพื้นที่ในจังหวัดเชียงราย พบว่า บริษัทโกโก้แลนด์คอร์ปอเรชั่น จำกัด ได้จัดทำโครงการส่งเสริมปลูกโกโก้ การรับซื้อผลผลิตและการแปรรูปให้กับเกษตรกรที่สนใจ ทำให้เริ่มมีการปลูกโกโก้ในจังหวัดเชียงรายมากขึ้น ประกอบกับเริ่มมีเกษตรกรหันมาปลูกโกโก้ในพื้นที่จังหวัดเชียงรายทั้งการปลูกแบบอินทรีย์และการปลูกแบบเกษตรพันธสัญญา นอกจากนี้ยังพบอีกว่า จังหวัดเชียงรายยังไม่มีการจัดทำฐานข้อมูลการปลูกโกโก้ เนื่องจากเป็นพืชเศรษฐกิจใหม่ ซึ่งหากมีฐานข้อมูลไม่ว่าจะ

เป็นข้อมูลพื้นฐานทางการผลิต ข้อมูลพื้นฐานเชิงพื้นที่ หรือ ข้อมูลทางสภาพภูมิอากาศ จะนำไปสู่กระบวนการจัดการส่งเสริมการเพาะปลูกที่เป็นระบบและยั่งยืน อีกทั้งยังสามารถกำหนดพื้นที่ที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ผลผลิตจากโกโก้มีคุณภาพตามที่ต้องการได้

โกโก้มีความเป็นเอกลักษณ์และกลิ่นที่มีความซับซ้อน โดยมีสารประกอบหลักๆ ที่ส่งผลต่อกลิ่นมากกว่า 600 ชนิด ซึ่งเป็นผลมาจากปัจจัยทางเคมี ชีววิทยา และทางกายภาพ โกโก้เป็นวัตถุดิบที่ใช้ทำผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น ชอคโกแลตโกโก้ผล ส่วนของเนยโกโก้จะใช้เครื่องสำอางเป็นต้น [4] การยอมรับคุณภาพของชอคโกแลต กลิ่น-รส ถือเป็นตัวที่มีบทบาทสำคัญที่สุดที่ผู้บริโภคใช้ในการตัดสิน [5] จากการศึกษาพบว่ากระบวนการสำคัญที่ส่งผลต่อการพัฒนาชอคโกแลตที่มีรส-กลิ่นเหมาะสมคือ กระบวนการหมักซึ่งเป็นกระบวนการที่จะสร้างสารตั้งต้นที่สำคัญต่อกระบวนการทางเคมีอื่นๆ ในกระบวนการผลิตชอคโกแลต การทำให้แห้ง และการคั่วผลโกโก้ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญในการสร้างสารประกอบที่ให้กลิ่นซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา Mailard's reaction [6] กลิ่น-รส ที่เด่นคือ กลิ่นกรด รสกรด รสฝาด และรสขม ซึ่งกลิ่น-รส เหล่านี้มีผลจากส่วนประกอบทางเคมีในสายพันธุ์โกโก้ โดยในแต่ละทวีปหรือในแต่ละประเทศเองก็ตามจะมีเอกลักษณ์ของรสชาติต่างกันเนื่องจาก สายพันธ์ที่ต่างรวมไปถึงสภาพภูมิอากาศ แร่ธาตุในดินที่ต่างกันก็มีผลต่อคุณภาพเมล็ด เหล่านี้จึงมีผลต่อส่วนประกอบทางเคมีในเมล็ดโกโก้นั่นเอง โดยการได้มาซึ่งคุณภาพเมล็ดโกโก้ดังกล่าว จึงจำเป็นจะต้องประเมินคุณภาพเมล็ดโกโก้หลังจากกระบวนการหมักและการทำให้แห้งแล้ว การศึกษาวิจัยนี้จะเป็นการดำเนินการเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้นของคุณภาพเมล็ดโกโก้ และนำไปสู่อัตลักษณ์ของเมล็ดโกโก้ในแต่ละแหล่งพื้นที่การปลูกซึ่งก็เป็นสิ่งสำคัญ จึงเห็นสมควรที่จะศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีและสภาวะแวดล้อมอื่น ๆ

วิธีการดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้ดำเนินการวิจัยภายในพื้นที่จังหวัดเชียงรายซึ่งมีพื้นที่ 11,587.7 ตารางกิโลเมตร ในการเก็บรวบรวมข้อมูลเชิงพื้นที่ ประชากรคือ สวนโกโก้ ในจังหวัดเชียงราย โดยผู้วิจัยได้เลือกกลุ่มตัวอย่างสวนโกโก้ 3 สวน ในการเก็บรวบรวมข้อมูลทางภูมิศาสตร์สาระสนเทศ และสำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีนั้นเก็บตัวอย่างดินจากสวน 1 และสวน 2 เท่านั้น สวนที่ 1 มีพิกัดตำแหน่งสวนที่ 20.109735 องศาเหนือ 99.696996 องศาตะวันออก สวนที่ 2 สวน มีพิกัดตำแหน่งสวนที่ 20.104328 องศาเหนือ 99.705283 องศาตะวันออก สวนที่ 3 มีพิกัดตำแหน่งสวนที่ 20.112195 องศาเหนือ 99.702642 องศาตะวันออก

การเก็บรวบรวมข้อมูลทางภูมิศาสตร์สารสนเทศ

การเก็บตัวอย่างดิน สุ่มเก็บตัวอย่างดินจากสวนตัวอย่าง 2 สวน แปลงละประมาณ 15 จุด โดยใช้อุปกรณ์ขุดดินเป็นรูปลิ่มที่ระดับความลึก 6 นิ้ว และ 12 นิ้ว หลังจากนั้นแซะดินข้างหลุม (ด้านเรียบ) ให้ได้ดินเป็นแผ่นหนาประมาณ 2-3 เซนติเมตร จนถึงก้นหลุมดินที่ได้เก็บรวบรวมใส่ถุงคลุกเคล้าตัวอย่างดินที่เก็บมาในแต่ละความลึกให้เข้ากัน เทลงบนผ้าพลาสติกหลังจากนั้นทำกองดินเป็นรูปฝาชี แล้วใช้มือตบยอดกองให้แบนราบ แบ่งดินเป็น 4 ส่วน เอาตัวอย่างดินจากกองนี้ 1 ส่วนเพื่อไปทำการวิเคราะห์

การหาปริมาณความชื้นและค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน นำตัวอย่างดินจากแหล่งปลูกโกโก้ 2 แหล่ง คือ สวน 1 และสวน 2 มาชั่งน้ำหนักก่อนอบ โดยเลือกตัวอย่างดินที่เป็นตัวแทนดินในกอง อบที่อุณหภูมิ 105.0-110.0 °C ไม่น้อยกว่า

ภาพที่ 1: การแบ่งดินเป็น 4 ส่วน

25 ชั่วโมง ให้แห้งและบันทึกน้ำหนักก่อนและหลังอบ จากนั้นหาค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นของดิน สำหรับการวัดค่าความเป็นกรดด่างของดินซึ่งเป็นสมบัติที่สำคัญที่มีอิทธิพลต่อขบวนการทางเคมีและชีวภาพในดินซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตของพืช เกี่ยวข้องกับ hydrogen ion (H^+) และ hydroxyl ion (OH^-) ในสารละลายดิน (soil solution) สำหรับการทดลองนี้ทำการวัดค่าความเป็นกรดด่างของดิน (pH) หาปริมาณสารอินทรีย์ (Total organic matter) ความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนบวก (Cation Exchange Capacity: CEC) ธาตุอาหารเช่น Nitrogen Potassium และ Phosphorus ตามวิธีมาตรฐานของกรมพัฒนาที่ดิน [8]

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโกโก้ วิเคราะห์ตามขั้นตอนการผลิตโกโก้ โดยเริ่มจากองค์ประกอบทางเคมีของผลดิบ โกโก้หลังหมัก โกโก้หลังคั่ว และผงโกโก้ การเตรียมตัวอย่างส่วนประกอบของโกโก้ โดยนำตัวอย่างมาทำความสะอาด แล้วนำไปอบให้แห้ง เพื่อเตรียมนำไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป ดังแสดงในภาพที่ 2

จากนั้นการหาค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยเครื่อง pH meter นำเมล็ดโกโก้ดิบ เมล็ดโกโก้หมัก เมล็ดโกโก้อบ ผงโกโก้ที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างแล้ว นำมาบดให้ละเอียด จากนั้นนำมาทดสอบเพื่อหาค่าความเป็นกรด - ด่าง สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมีของตัวอย่างโกโก้โดยวิธีแบบประมาณ (Proximate analysis) ตามวิธีมาตรฐาน AOAC โดย (1) ความชื้น (moisture) ตามมาตรฐาน AOAC1998 [9] (2) เถ้า (ash) ตามมาตรฐาน AOAC1998 [9] (3) ไขมันหยาบ (crude fat) ตามมาตรฐาน AOAC2005[10] (4) โปรตีนหยาบ (crude protein) ตามมาตรฐาน AOAC1998[9] (5) เยื่อใยหยาบ (crude fiber) ตามมาตรฐาน AOAC1998 [9] และ (6) คาร์โบไฮเดรต (nitrogen free extract) ตามมาตรฐาน AOAC 1998 [9] ส่วนการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ใช้เทคนิคสเปกโตรสโคปี [12] ด้วยวิธี DNS method (Dinitrosalicylic acid method) ที่ค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 540 nm ทำการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส และการหาปริมาณกรดอินทรีย์เช่น กรดซิตริก กรดอะซิติก กรดแลคติก และ

ภาพที่ 2: ตัวอย่างผลดิบ โกโก้หลังหมัก โกโก้หลังคั่ว อบแห้ง

กรดออกซาลิก โดยใช้วิธีไทเทชัน [12] คำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยค่า milliequivalent factor (meq.wt) ของกรดต่างๆ โดยอ้างอิงตาม Hach Company/Hach Lange GmbH, 2019 ดังสมการ

$$\text{กรดซิตริก (\%)} = \frac{\text{N ของ NaOH x มิลลิลิตรของ NaOH ที่ใช้ x meq.wt citric acid x 100}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \quad (1)$$

เมื่อ N คือ ความเข้มข้นของสารในหน่วย นอร์มอลของสารลาย NaOH

Meq.wt คือ น้ำหนักสมมูล milliequivalent weigth ของกรดซิตริก

สำหรับการหาปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว ใช้วิธีการไทเทรชันด้วย 0.1 M alcoholic KOH ตามวิธีมาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ [13] การคำนวณและการรายงานผล (Calculation and expression of result) ตามวิธี AOCS Official Method Cd 3d-63 revised., 2003 โดยการรายงานค่าในรูปของกรดไขมันอิสระ (free fatty acids) ในรูปของ % lauric, % oleic หรือ % palmitic acid ให้การคำนวณโดยการหารค่าของกรดที่ได้ด้วยแฟคเตอร์ 2.81, 1.99 หรือ 2.19 ตามลำดับ

วิธีการตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา ในโกโก้ ใช้วิธีการตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา โดยวิธี standard plate count ด้วยเทคนิค pour plate [14]

การวิเคราะห์หา volatile compound ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์หา volatile compound ด้วยเทคนิค Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) และการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโน ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งอ้างอิงมาตรฐาน [15,16]

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

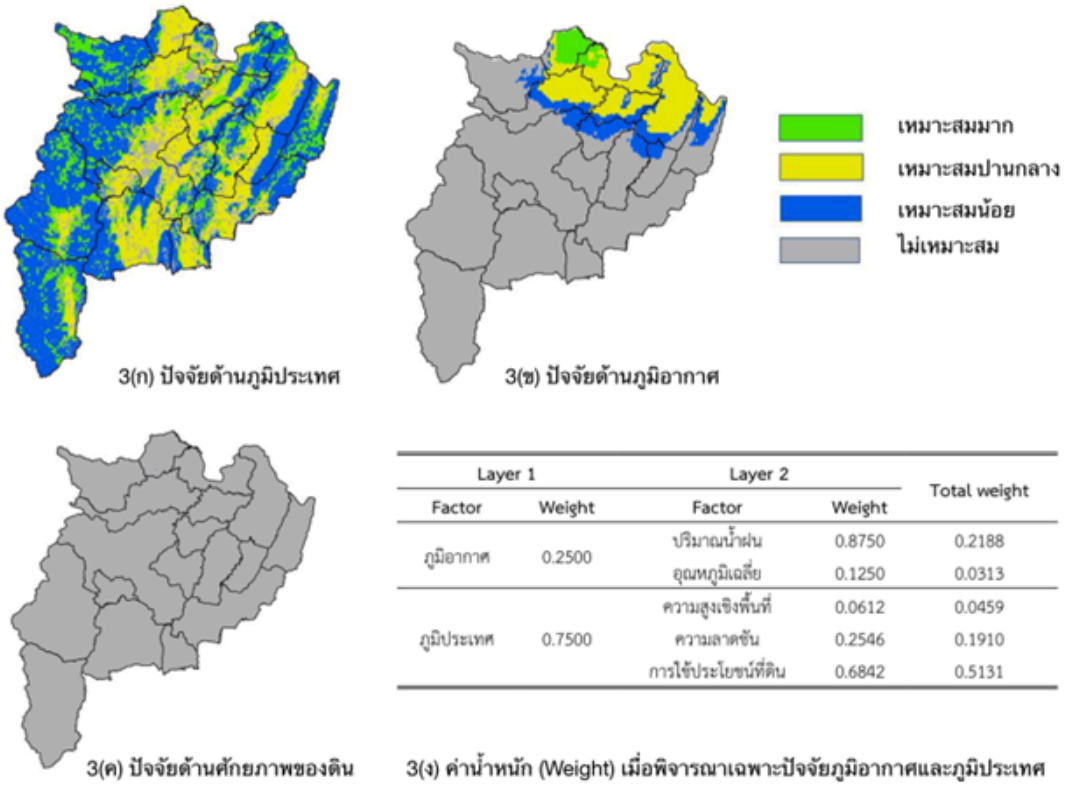
การปลูกโกโก้ของสวนตัวอย่างทั้ง 3 สวนนี้เป็นการปลูกแบบเกษตรอินทรีย์ 2 สวนคือ สวน 1 และสวน 2 ในขณะที่สวน 3 ก็มีการปลูกแบบใช้ปุ๋ยเคมีร่วมด้วยปีละครั้ง การบำรุงรักษาต้นโกโก้มีเพียงสวน 1 เท่านั้นที่มีการตัดแต่ง

กิ่งอย่างสม่ำเสมอ การให้ปุ๋ยมีเพียงสวน 1 และสวน 2 ที่มีระยะเวลาการให้ปุ๋ยแน่นอน ส่วนปัญหาโรคพืชโรคแมลง ทุกสวนประสบปัญหาเช่นเดียวกัน มีแค่เพียงสวน 2 ที่ใช้ยาฆ่าแมลง ทำให้ปัญหาเรื่องแมลงลดลงได้บ้าง

จากภาพที่ 3 (ก) แสดงแผนที่แสดงพื้นที่เหมาะสมสำหรับการเพาะปลูกโกโก้ในจังหวัดเชียงรายเมื่อพิจารณาเฉพาะปัจจัยด้านภูมิประเทศ พบว่า พื้นที่เหมาะสมสำหรับการเพาะปลูกโกโก้กระจายอยู่ทั่วไปในพื้นที่จังหวัดเชียงราย โดยเป็นพื้นที่ที่มีความสูงจากระดับน้ำทะเลไม่เกิน 800 เมตร ซึ่งเป็นพื้นที่ตรงกับระดับความสูงที่เหมาะสมกับการปลูกโกโก้ในประเทศอินโดนิเซีย [17] ส่วนภาพที่ 3 (ข) แสดงแผนที่แสดงพื้นที่เหมาะสมสำหรับการเพาะปลูกโกโก้ในจังหวัดเชียงรายเมื่อพิจารณาเฉพาะปัจจัยด้านภูมิอากาศ พบว่า พื้นที่เหมาะสมสำหรับการเพาะปลูกโกโก้ กระจายอยู่ทางเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือของจังหวัดเชียงราย โดยส่วนใหญ่เป็นพื้นที่เหมาะสมปานกลาง (พื้นที่สีเหลือง) ส่วนภาพที่ 3(ค) แสดงแผนที่แสดงพื้นที่เหมาะสมสำหรับการเพาะปลูกโกโก้ในจังหวัดเชียงรายเมื่อพิจารณาเฉพาะปัจจัยด้านศักยภาพของดิน พบว่า พื้นที่แทบทั้งหมดของจังหวัดเชียงรายไม่เหมาะสมกับการเพาะปลูกโกโก้ (พื้นที่สีเทา) และเมื่อวิเคราะห์ตามเนื้อที่ที่เหมาะสม โดยแยกตามลักษณะของปัจจัยหลักจากแผนที่ความเหมาะสมที่ได้ พบว่า ศักยภาพดินสำหรับการเพาะปลูกโกโก้อยู่ในระดับต่ำ ทำให้พื้นที่แทบทั้งจังหวัดเป็นพื้นที่ที่ไม่เหมาะสม ดังนั้น จึงได้ทำการพิจารณาเฉพาะปัจจัยภูมิประเทศและภูมิอากาศ โดยเริ่มจากการคำนวณค่าน้ำหนักใหม่ ได้ผลดังภาพที่ 3 (ง) ค่าน้ำหนักของปัจจัยภูมิประเทศมีค่ามากกว่าภูมิอากาศ และเมื่อพิจารณาในภาพรวมพบว่าการใช้ประโยชน์ที่ดินมีค่าน้ำหนักมากที่สุด (0.5131) รองลงมาคือ ปริมาณน้ำฝน (0.2188), ความลาดชัน (0.1910), ความสูงเชิงพื้นที่ (0.0459) และอุณหภูมิเฉลี่ย (0.0313) ตามลำดับ ดังนั้นในการเพาะปลูกโกโก้ควรพิจารณาจากข้อมูลการใช้ประโยชน์ของที่ดินเป็นอันดับแรก

เมื่อพิจารณาข้อมูลดินที่สกัดมาจากแผนที่ดินของสวน 1 และสวน 2 เทียบกับข้อมูลการวิเคราะห์ทางเคมีของดินตัวอย่าง 2 สวน ได้ผลดังตารางที่ 1 ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่าที่ได้ใกล้เคียงกัน ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยพื้นที่ที่เหมาะสมกับการปลูกโกโก้ ลักษณะดินควรเป็นดินร่วน ปริมาณอินทรียวัตถุในดินสูง หน้าดินลึก การระบายน้ำในดินค่อนข้างดี จากการเก็บตัวอย่างดินทั้ง 2 สวน ลักษณะทางกายภาพ ของดิน เป็นดินร่วนสีน้ำตาลเข้ม ผลปริมาณความชื้นของดินจากตัวอย่างดินจากสวน 1 และสวน 2 พบว่าค่าความชื้นในดินอยู่ในช่วง 10.01-11.16% ซึ่งพบว่าเป็นดินที่ค่อนข้างแห้งอาจส่งผลในระยะยาวต่อสารองค์ประกอบที่มีอยู่ในดิน [18]

ค่า pH ในดินทั้ง 2 ตัวอย่างที่วัดในตัวทำละลายน้ำอยู่ที่ 5.40- 5.97 ซึ่งอยู่ในช่วงของ pH ที่เหมาะสมต่อการเพาะปลูกโกโก้ คือ pH 5.6-7.0 [19] ค่าความเป็นกรดที่ระดับความลึก 6 นิ้วและ 12 นิ้วของตัวอย่างดินในตัวอย่างที่ 1 มีค่ามากกว่าในตัวอย่างที่ 2 อาจเนื่องมาจากการชะล้างไอออนบวกของพื้นที่ในตัวอย่างที่ 1 ที่มีค่ามากกว่าในตัวอย่างพื้นที่ 2 เนื่องจากเกลือที่ละลายน้ำได้จะมีอิทธิพลทำให้ ค่า pH ของ soil suspension จะลดลง ถ้ามีปริมาณเกลือที่ละลายได้เพิ่มขึ้น โดยปกติแล้ว pH ของดินจะต่ำในฤดูแล้งและมีค่าสูงในฤดูฝน เนื่องจากมีการสะสมของเกลือที่ละลายได้ในฤดูแล้ง และมีการชะล้างในฤดูฝน ดังนั้นเพื่อแก้ปัญหานี้ จึงต้องใช้ สารละลาย KCl และ CaCl2 วัด pH ร่วมกับน้ำ CaCl2 ในอัตราส่วน 1 : 2 pH ที่ได้จะมีค่าต่ำกว่า pH ที่วัดได้จากน้ำอยู่ 0.5 หน่วย pH ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ได้ดังตาราง 1 จาก ค่า pH ของดินในสารละลาย CaCl2 ของตัวอย่างดิน 1 อยู่ในช่วงต่ำกว่า 5 แสดงว่า ตัวอย่างดินนี้จัดอยู่ในคลาส Acid class ในขณะที่ตัวอย่างดิน 2 มีค่า pH อยู่ในช่วง มากกว่าหรือเท่ากับ 5 นั้นจัดอยู่ในคลาส non-acid class สำหรับตัวอย่างดินเพื่อหาปริมาณสารอินทรีย์ (Total organic matter), ความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนบวก (Cation



Layer 1		Layer 2		Total weight
Factor	Weight	Factor	Weight	
ภูมิอากาศ	0.2500	ปริมาณน้ำฝน	0.8750	0.2188
		อุณหภูมิเฉลี่ย	0.1250	0.0313
ภูมิประเทศ	0.7500	ความสูงเชิงพื้นที่	0.0612	0.0459
		ความลาดชัน	0.2546	0.1910
		การใช้ประโยชน์ที่ดิน	0.6842	0.5131

3(ง) ค่าน้ำหนัก (Weight) เมื่อพิจารณาเฉพาะปัจจัยภูมิอากาศและภูมิประเทศ

ภาพที่ 3: ข้อมูลแสดงพื้นที่เหมาะสมด้านภูมิประเทศ ภูมิอากาศ และศักยภาพดิน สำหรับการเพาะปลูกโกโก้ในจังหวัดเชียงราย และตารางแสดงน้ำหนักความสำคัญของปัจจัยที่ส่งผลต่อความการเพาะปลูกโกโก้ในจังหวัดเชียงราย

Exchange Capacity: CEC), ธาตุอาหารเช่น Nitrogen, Potassium และ Phosphorus ได้ทำการส่งตัวอย่างดินไปทดสอบ ณ ห้องปฏิบัติการปฐพีศาสตร์ ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ของทั้ง 2 สวน ปริมาณอินทรียวัตถุในดินสูง ประมาณ 1.23 % หน้าดินลึก การระบายน้ำในดินค่อนข้างดี แต่ปริมาณสารอินทรีย์วัตถุของที่สวนโกโก้นี้ยังมีค่าค่อนข้างต่ำอยู่

การวิเคราะห์ทางเคมีของตัวอย่างโกโก้โดย Proximate analysis

จากผลที่ได้ตามตารางที่ 2 พบว่า ค่า pH ของเมล็ดโกโก้ตามขั้นตอนการแปรรูป อยู่ในช่วง 5.22 – 7.19 การที่ค่า pH เพิ่มขึ้นมีผลต่อกลิ่นกรดลดลงพร้อมช่วยให้กลิ่น-รสโกโก้เพิ่มขึ้นอีกด้วย ดังนั้นแสดงว่าในกระบวนการหมักโกโก้ของเกษตรกรปริมาณกรดอินทรีย์ลดลง สำหรับค่า pH ที่ปรากฏอยู่ในเมล็ดโกโก้หมักแห้งนั้น Jinap และ Dimick [20] ได้จำแนกเป็น 3 กลุ่มได้แก่ กลุ่ม pH ต่ำ (pH 4.75-5.19) กลุ่ม pH ปานกลาง (pH 5.20-5.49) และกลุ่ม pH สูง (pH 5.50-5.80) และพบว่าเมล็ดโกโก้จากอัฟริกาตะวันตก ซึ่งเป็นกลุ่มประเทศที่ผลิตเมล็ดโกโก้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคนั้นมีค่า pH อยู่ในช่วงปานกลาง และเมล็ดโกโก้ที่ได้จากการกระบวนการแปรรูปของสวน 1 มีค่า pH สูง (pH 5.89-7.19) ซึ่งจากการศึกษาของ Jinap และ คณะ [21] ที่รายงานว่าซ็อกโกแลตที่ผลิตจากเมล็ดโกโก้แห้งที่มี pH ต่ำ และสูงจะมีกลิ่น-รสช็อกโกแลตลดลง ในขณะที่เมล็ดที่มี pH ปานกลาง (เช่นเมล็ดโกโก้จากประเทศกานา) จะเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค นอกจากนี้ Lopez และ Quesnel [22] ได้รายงานว่าเมล็ดโกโก้ที่มี pH มากกว่า 6.0 นั้น เกิดจากการหมัก

ตารางที่ 1: แสดงปริมาณสารอินทรีย์ ความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนบวก ธาตุอาหาร (Nitrogen, Potassium และ Phosphorus) ของดินจากแหล่งปลูกโกโก้ดินสวน 1 และส่วน 2 ที่ระดับความลึก 6 นิ้ว และ 12 นิ้ว และการสกัดข้อมูลจากแผนที่ดิน

คุณสมบัติที่ทำการวิเคราะห์	สวน 1			สวน 2		
	ความลึก 6 นิ้ว	ความลึก 12 นิ้ว	แผนที่ดิน	ความลึก 6 นิ้ว	ความลึก 12 นิ้ว	แผนที่ดิน
ปริมาณสารอินทรีย์ (%)	1.76	1.74	-	1.23	0.95	-
ความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนบวก (cmol/kg)	11.72	12.03	15.6	9.23	9	15
ไนโตรเจนทั้งหมด (Total N, %)	0.17	0.16	0.119	0.1	0.08	0.124
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (mg/kg)	6.7	5.37	-	24.44	14.91	-
โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (mg/kg)	270.9	222.76	-	58.28	57	-
pH	5.61	5.56	5.50	5.97	5.97	5.40

นานเกินไป (overfermentation) ซึ่งจะทำให้เมล็ดโกโก้มีลักษณะกลิ่น-รสผิดปกติ (hammy flavor) และมีการผลิตกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เป็นผลให้กลิ่น-รสผิดปกติเพิ่มขึ้นด้วย การวิเคราะห์ Proximate analysis ซึ่งประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เถ้า เยื่อใย (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) โดยวิธีมาตรฐาน AOAC พบว่า ส่วนประกอบทางเคมีของเมล็ดโกโก้ทั้ง 4 ตัวอย่าง ด้วยวิธี Proximate Analysis พบว่า วัตถุแห้ง 95.38-97.69% เถ้า 2.92-8.33% เยื่อใย 20.23-28.99% ไขมัน 22.94-41.45% โปรตีน 14.0-22.2% คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยง่าย 8.1-25.0% พบว่าปริมาณโปรตีนลดลงเล็กน้อยในเมล็ดโกโก้หลังหมัก แสดงว่าโปรตีนในเมล็ดโกโก้ในระหว่างการหมักจะถูกเอนไซม์ภายในเมล็ดโกโก้ย่อยสลายและบางชนิดมีผลต่อกลิ่น-รสของโกโก้ จากการศึกษาของ Niimoto and Tanitsu [23] พบว่า กลิ่น-รสของช็อกโกแลตสามารถทำให้เพิ่มขึ้นได้โดยการเพิ่มอัตราส่วนของกรดแอสปาร์ติกกับกรดอะมิโนชนิดอื่นในเมล็ดสด ทั้งนี้เนื่องจากกรดอะมิโนแอสปาร์ติกจะย่อยสลายเป็น acetaldehyde ซึ่งเป็นสารประกอบกลิ่น-รสของช็อกโกแลตตัวหนึ่ง นอกจากนี้ยังพบว่าการลดลงของกรดอะมิโนแอสปาร์ติกในระหว่างการหมักจึงมีผลต่อกลิ่นและรสของช็อกโกแลต ส่วนปริมาณไขมัน พบว่าหลังคั่วและผงโกโก้จะมีปริมาณลดลง เกิดจากผลของการแปรสภาพทำให้ไขมันถูกสกัดออกไป ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของโกโก้ตามขั้นตอนการแปรรูป อยู่ในช่วง 0.0327 - 0.0851 g/L การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในเมล็ดโกโก้นั้นเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนและน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งมีความสำคัญต่อการเกิดช็อกโกแลตในปฏิกิริยา Maillard และปฏิกิริยา Strecker degradation ในระหว่างการคั่วเมล็ดโกโก้อีกด้วย [24]

การหาปริมาณกรดอินทรีย์

ปริมาณกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดอะซิติก กรดแลคติก กรดซิตริก และกรดออกซาลิก โดยปริมาณกรดที่ได้ (Titratable acidity, TA) โดยการไทเทรตด้วย 0.1 N NaOH โดยใช้ phenopthalein เป็น indicator คำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดที่มีอยู่ในตัวอย่าง ได้ผลตามตารางที่ 3

ตารางที่ 2: แสดงผลการวิเคราะห์ Proximate analysis ของเมล็ดโกโก้ดิบ เมล็ดโกโก้หลังหมัก เมล็ดโกโก้หลังคั่ว และผงโกโก้

ส่วนประกอบของตัวอย่าง	ตัวอย่างเมล็ดโกโก้			
(Compositon, Air dry basis)	ผลดิบ	หลังหมัก	หลังคั่ว	ผงโกโก้
วัตถุแห้ง (DM, %) *	96.72	95.38	97.69	96.92
เถ้า (DM, %) *	3.89	2.92	3.07	8.33
เยื่อใย (EF, %)*	28.99	20.63	28.77	20.23
ไขมัน (EE, %) *	40.17	41.45	26.06	22.94
โปรตีน (CP, %) *	15.5	14.0	14.8	22.2
คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยง่าย (NFE, %)	8.1	16.4	25.0	23.2
pH	5.22	5.89	5.97	7.19
ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/L)	0.0327	0.0654	0.0851	0.0701

หมายเหตุ * ตามวิธีมาตรฐาน AOAC

จากการทดลองพบว่า ปริมาณกรดซิตริก มีปริมาณอยู่ในช่วง 0.037 - 0.074% กรดออกซาลิก มีปริมาณอยู่ในช่วง 0.007 - 0.014% กรดแลคติก มีปริมาณอยู่ในช่วง 0.008 - 0.016% และกรดอะซีติก มีปริมาณอยู่ในช่วง 0.034 - 0.068% โดยเมล็ดหลังคั่วมีปริมาณกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆมากที่สุด รองลงมาเป็นผงโกโก้ เมล็ดโกโก้ดิบและเมล็ดโกโก้หลังหมัก ตามลำดับ จากความสัมพันธ์ของค่า pH เมื่อค่า pH เพิ่มขึ้นมีผลต่อกลิ่นกรดลดลงพร้อมช่วยให้กลิ่น-รสโกโก้เพิ่มขึ้นอีกด้วย ดังนั้นแสดงว่าในกระบวนการหมักโกโก้ของเกษตรกรปริมาณกรดอินทรีย์ลดลง ซึ่งสัมพันธ์กับผลการทดลองที่ปริมาณกรดอินทรีย์มีค่าน้อยสุดในเมล็ดโกโก้หลังหมัก จากการศึกษาที่ผ่านมาชนิดกรดอินทรีย์ที่พบในเมล็ดโกโก้มีหลายชนิด [25] กรดที่มีบทบาทต่อกลิ่น-รสของโกโก้มี 4 ชนิด ได้แก่ กรดอะซิติก กรดแลคติก กรดซิตริก และกรดออกซาลิก โดยพบว่า กรดอะซิติก และกรดแลคติก มีความสัมพันธ์กับกลิ่น-รสโกโก้ แบบ negative แต่มีความ

ตารางที่ 3: แสดงค่าปริมาณกรดอินทรีย์และปริมารณกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวของเมล็ดโกโก้ดิบ เมล็ดโกโก้หลังหมัก เมล็ดโกโก้หลังคั่ว และ ผงโกโก้

ตัวอย่างโกโก้	ปริมาณกรดอินทรีย์ (%)				ปริมาณ กรดไขมันอิสระ (%)		
	Acetic acid	Citric acid	Oxalic acid	Lactic acid	lauric	oleic	palmitic
เมล็ดโกโก้ดิบ	0.048	0.053	0.010	0.012	7.99	11.28	10.25
เมล็ดโกโก้หลังหมัก	0.034	0.037	0.007	0.008	9.07	12.81	11.64
เมล็ดโกโก้หลังคั่ว	0.068	0.074	0.014	0.016	11.30	15.95	14.50
ผงโกโก้	0.045	0.049	0.009	0.011	15.16	21.40	19.45

ตารางที่ 4: แสดงค่าผลการตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และราในเมล็ดโกโก้ดิบ เมล็ดโกโก้หลังหมัก เมล็ดโกโก้หลังคั่ว และผงโกโก้

ตัวอย่าง/จุลินทรีย์	จุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนี/ตัวอย่าง 1 กรัม)	ยีสต์ (โคโลนี/กรัม)	รา (โคโลนี/กรัม)
เมล็ดโกโก้ดิบ	$<2.5 \times 10^3$	15	<10
เมล็ดโกโก้หลังหมัก	3.8×10^3	<10	10
เมล็ดโกโก้หลังคั่ว	4.6×10^3	<10	10
ผงโกโก้	$<2.5 \times 10^3$	<10	<10

สัมพันธ์กับกลิ่นกรดแบบ positive ในทางตรงข้ามกรดออกซาลิกและกรดซิตริก มีความสัมพันธ์กับกลิ่น-รสโกโก้ แบบ positive แต่มีความสัมพันธ์กับกลิ่นกรดแบบ negative ในงานวิจัยนี้พบว่าโกโก้ที่ศึกษา กลุ่ม volatile acid มีปริมาณกรดอะซิติกสูงกว่ากรดแลคติก ส่วนกลุ่ม non-volatile acid ปริมาณกรดซิตริก สูงกว่ากรดออกซาลิก ซึ่งอาจเกิดจากระบวนการหมักที่แตกต่างกันของแต่ละที่ เมล็ดโกโก้ที่ผ่านการหมักอย่างดี จะพบว่ามีสีน้ำตาล มีรสขมเล็กน้อยและมีกลิ่นหอม เมล็ดที่หมักไม่ดีจะมีสีม่วง รสเปรี้ยวรุนแรง ส่งผลต่อคุณภาพของเมล็ดโกโก้แห้ง โดยเฉพาะเกี่ยวกับเรื่องของกลิ่นและรสชาติ ปริมาณกรดไขมันทั้งหมด ของโกโก้ตามขั้นตอนการแปรรูป อยู่ในช่วง 22.44 – 42.59 และกรดไขมันอิสระ พบว่า % lauric acid อยู่ในช่วง 7.99 - 15.16 % oleic acid อยู่ในช่วง 11.28 - 21.40 และ % palmitic acid อยู่ในช่วง 10.25 - 19.45 พบว่า ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัวของตัวอย่างที่ศึกษามีค่าใกล้เคียงกัน

การตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา ในโกโก้ โดยวิธี Pour plate

การตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา ในโกโก้ โดยวิธี Pour plate อ้างอิงมาตรฐาน BAM (2001) ผลการทดลองตามภาพต่อไปนี้

จากตารางที่ 4 แสดงผลการตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ของตัวอย่างโดยวิธี Pour plate พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ในเมล็ดโกโก้ดิบ เมล็ดโกโก้หลังหมัก เมล็ดโกโก้หลังคั่ว และผงโกโก้ อยู่ในช่วง $<2.5 \times 10^3$ - 4.6×10^3 โคโลนี/ตัวอย่าง 1 กรัม ปริมาณยีสต์ในเมล็ดโกโก้ดิบ เมล็ดโกโก้หลังหมัก เมล็ดโกโก้หลังคั่ว และผงโกโก้อยู่ในช่วง <10 – 15 โคโลนี/กรัม ปริมาณราในเมล็ดโกโก้ดิบ เมล็ดโกโก้หลังหมัก เมล็ดโกโก้หลังคั่ว และผงโกโก้อยู่ในช่วง <10 – 10 โคโลนี/กรัม ผลการตรวจ Escherichia coli พบว่าทุกตัวอย่าง ในขั้นประมาณการณ์ (Presumptive test) ไม่เกิดแก๊สใน หลอดดักแก๊ส ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไม่มีการปนเปื้อนของ Escherichia coli ในทุกตัวอย่างที่นำมาทดสอบ เมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์มาตรฐาน มอก.1137-2550 [26] ระบุว่า Escherichia coli ที่เจริญโดยใช้ อากาศ (Aerobic plate count) ในโกโก้ผงสำหรับใช้ในอุตสาหกรรม ต้องน้อยกว่า 3 ในตัวอย่าง 1 กรัม พบว่าทุกตัวอย่าง ในขั้นประมาณการณ์ (Presumptive test) ไม่เกิดแก๊สใน หลอดดักแก๊ส ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไม่มีการปนเปื้อนของ Escherichia coli ในทุกตัวอย่างที่นำมาทดสอบ

นอกจากนี้ยังพบว่าในเกณฑ์มาตรฐาน มอก.1137-2550 ระบุว่า จุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา ที่เจริญ โดยใช้อากาศ (Aerobic plate count) ในโกโก้ผงสำหรับใช้ในอุตสาหกรรม จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ไม่เกิน 3×10^3 โค

โลนี/ตัวอย่าง 1 กรัม ยีสต์ ไม่เกิน 50 โคโลนี/ตัวอย่าง 1 กรัม และ รา ไม่เกิน 50 โคโลนี/ตัวอย่าง 1 กรัม พบว่าตัวอย่างโกโก้ที่เป็นผงโกโก้ และ ตัวอย่างเมล็ดโกโก้ผลดิบ มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ผ่านเกณฑ์ มาตรฐาน ($< 2.5 \times 10^3$ โคโลนี/ตัวอย่าง 1 กรัม) และทุกตัวอย่าง (เมล็ดโกโก้ดิบ เมล็ดโกโก้หลังหมัก เมล็ดโกโก้หลังคั่ว ผงโกโก้) มีจำนวน ยีสต์ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน (<10, 15, <10 และ <10 โคโลนี/ตัวอย่าง 1 กรัม ตามลำดับ) และจำนวนรา ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน (<10, <10, 10 และ 10 โคโลนี/ตัวอย่าง 1 กรัม ตามลำดับ) ทั้ง 4 ตัวอย่างเช่นกัน จากข้อมูลอ้างอิง (กองบรรณาธิการ, 2564) ได้มีรายงานผลตรวจวิเคราะห์เชื้อราและสารพิษโอคราท็อกซิน เอ ในผลิตภัณฑ์เมล็ดกาแฟคั่ว โดยอ้างอิงวิธีมาตรฐาน BAM พบว่า ปริมาณเชื้อราน้อยกว่า 10 โคโรนีต่อกรัม และไม่พบสารพิษโอคราท็อกซิน เอ ในผลิตภัณฑ์ ดังนั้นในการวิเคราะห์ตัวอย่างปริมาณราในตัวอย่างทั้ง 4 ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน และมีค่าอยู่ในช่วง <10 – 10 โคโรนีต่อกรัม แสดงให้เห็นว่าไม่พบสารพิษโอคราท็อกซิน เอ ในตัวอย่างด้วยเช่นกัน การศึกษาปริมาณออคราทอกซิน เอ ในแหล่งปลูกโกโก้ต่างๆ เพื่อให้ทราบถึงปริมาณสารพิษจากเชื้อราที่ปนเปื้อนในเมล็ดโกโก้ และมาตรการในการลดการปนเปื้อนของเชื้อรา พบปริมาณสารพิษจากเชื้อรา 0.88 μg/kg ซึ่งไม่เกินมาตรฐานกำหนด (มาตรฐาน 5 μg/kg) นอกจากนั้นพบเชื้อรา A. flavus ที่สร้างสารพิษ Aflatoxin เกือบทุกตัวอย่างเฉลี่ย 20.17 % และ Pennicillium 12.93% ที่เหลือเป็นเชื้อรา Aspergillus sp. และ Mycelium สาเหตุเกิดจากขั้นตอนการแปรรูปหลังการเก็บ เกี่ยว และการเก็บรักษา นอกจากนั้นปัจจัยด้านสภาพแวดล้อม เช่น ความชื้น อุณหภูมิ เป็นตัวการสำคัญที่ส่งเสริม ให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อราและสารพิษจากเชื้อรา การปฏิบัติที่ถูกต้องเป็นมาตรการลดการปนเปื้อนของเชื้อรา ได้เป็นอย่างดียอมส่งผลต่อคุณภาพของเมล็ดโกโก้เช่นกัน [27]

การวิเคราะห์หา volatile compound ของตัวอย่างเมล็ดโกโก้ดิบและผงโกโก้

สารระเหยชนิดกรดที่พบในตัวอย่างผงโกโก้มากที่สุด คือ D-alanine ส่วน acetic acid หลังผ่านกระบวนการแปรรูปจากเมล็ดโกโก้ดิบเป็นผงโกโก้ ปริมาณกรดอินทรีย์กลุ่ม volatile acid ก็ลดลงไป ในกลุ่มของชนิดสารระเหยประเภท Aldehyde พบ ปริมาณของ 3-methyl- butanal มากที่สุด รองลงมาเป็น 2-methyl- propanal และ benzeneacetaldehehyde ซึ่งเป็นสารในกลุ่มที่ให้กลิ่น ดอกไม้และน้ำผึ้ง (honey, floral) นอกจากนี้ยังพบกลุ่มชนิดสารระเหยประเภท amine และที่แตกต่างไปจากชนิดสารที่พบในเมล็ดโกโก้ดิบ คือ กลุ่ม ester และ ketone จากการศึกษาพบว่า สารประกอบอินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์ คีโตน กรดอินทรีย์ เอสเธอร์ ไพราซีน และฟีนอล เป็นสารที่เกิดขึ้นมาระหว่างการหมัก ที่จะนำไปสู่กลิ่น – รส สุดท้ายในช็อกโกแลต [28] ในการวิเคราะห์ตัวอย่างผงโกโก้ดิบและผงโกโก้หลังผ่านกระบวนการ หมัก คั่ว และบีบอัดเอาโกโก้บัตเตอร์ออกไป พบว่า ในผลดิบนั้นมีสารประกอบจำพวก กรดอินทรีย์อยู่ 6 ชนิด แอลดีไฮด์อยู่ 4 ชนิด เอมีน อยู่ 2 ชนิด และมีฟูรานอยู่ 1 ชนิด จากข้อมูลการวิเคราะห์พบกลุ่มกรดอินทรีย์ โดย D-alanine ซึ่งเป็น hydrophobic free amino acid ที่เป็นสารตั้งต้นในการเกิดกลิ่นซึ่งพบมากที่สุด และกลุ่มของแอลดีไฮด์รองลงมา สารอินทรีย์ระเหยได้พบมากที่สุดในกลุ่มนี้คือ butanal ที่ปริมาณ 24.13 สำหรับในกรณีของโกโก้ผงหลังผ่านกระบวนหมัก คั่วและบีบอัดโกโก้บัตเตอร์แล้วนั้นจะพบว่า แนวโน้มของสารอินทรีย์ระเหยได้เปลี่ยนไปจากโกโก้ดิบนั่นคือ กลุ่มของแอลดีไฮด์มีปริมาณมากที่สุดและกลุ่มกรดอินทรีย์มีมากเป็นอันดับ 2 โดยสารประกอบที่มีมากที่สุดในแต่ละกลุ่มยังคงเป็น butanal (45.01) และ D-alanine (33.66) ตามลำดับ ทั้งนี้จะสังเกตพบว่า กลิ่นของผงโกโก้จะมีกลิ่นช็อกโกแลตเป็นหลัก

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโน ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

การหาปริมาณกรดอะมิโน ของเมล็ดโกโก้ผลดิบ และผงโกโก้ รสชาติของช็อกโกแลตจะเริ่มจากการหมักเมล็ด โดยเมล็ดโกโก้ที่มีเนื้อขาวติดอยู่จะถูกหมักไว้ระยะเวลาหนึ่ง กระบวนการเริ่มการหมักโดยยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลในเนื้อของโกโก้เป็นกรดและแอลกอฮอล์ จากนั้นยีสต์จะตายเพราะแอลกอฮอล์ที่ถูกสร้างขึ้นและในขณะเดียวกันอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งสภาวะที่แลคติกแอซิดแบคทีเรีย เช่น Lactobacillus และ Streptococcus จะเจริญเติบโต และเมื่อเพิ่มออกซิเจนในถังหมักโดยการคนเนื้อและเมล็ดโกโก้ ในขณะที่ pH ต่ำ จะเป็นช่วงที่อะซีติกแอซิดแบคทีเรีย Acetobacter และ Gluconobacter เจริญเติบโต จากนั้นกรดที่ได้จากการหมักด้วยยีสต์จะค่อย ๆ แทรกเข้าไป ในเมล็ดโกโก้ และจะกระตุ้นให้เกิดกระบวนการทางชีวเคมีที่จะเป็นการเริ่มต้นของกลิ่นรสช็อกโกแลต ซึ่งเป็นกระบวนการที่ลด ปริมาณสารอื่น ๆ ที่อยู่ในเมล็ด ส่งผลให้เมล็ดโกโก้มีความขมลดลง จากนั้นโปรตีนในเมล็ดจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโน ทำให้เมล็ดโกโก้หลังกระบวนการหมักมีปริมาณกรดอะมิโนเพิ่มขึ้น

ส่วนกรดอะมิโนแอสปาร์ติก ซึ่ง Niimoto and Tanitsu [23] กล่าวว่ามีผลต่อกลิ่น-รสของโกโก้ โดยพบว่ากลิ่น-รสของช็อกโกแลตสามารถทำให้เพิ่มขึ้นได้โดยการเพิ่มอัตราส่วนของกรดแอสปาร์ติกกับกรดอะมิโนชนิดอื่นในเมล็ดสด ทั้งนี้เนื่องจากกรดอะมิโนแอสปาร์ติกจะย่อยสลายเป็น acetaldehyde ซึ่งเป็นสารประกอบกลิ่น –รสของช็อกโกแลตตัวหนึ่ง นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณกรดอะมิโนแอสปาร์ติกในเมล็ดสดของมาเลเซียน้อยกว่าเมล็ดโกโก้สดของประเทศแถบอเมริการกลางซึ่งถือว่าเป็นเมล็ดโกที่มีคุณภาพมากกว่า [15] ดังนั้นการลดลงของกรดแอสปาร์ติกในระหว่างการหมักจึงมีผลต่อกลิ่น-รสช็อกโกแลต

สรุปผลการวิจัย

ผลการวิเคราะห์โดยการคำนวณค่าน้ำหนักพบว่า ปัจจัยภูมิประเทศมีค่ามากกว่าภูมิอากาศ และเมื่อพิจารณาในภาพรวมพบว่าการใช้ประโยชน์ที่ดินมีค่าน้ำหนักมากที่สุด (0.5131) และดินจากสวนทั้ง 2 นั้น อยู่ใน acid class ปริมาณอินทรียวัตถุในดินสูงประมาณ 1.23 % หน้าดินลึก การระบายน้ำในดินค่อนข้างดี

การวิเคราะห์ Proximate analysis ของทั้ง 4 ตัวอย่างคือ เมล็ดโกโก้ผลดิบ เมล็ดโกโก้หลังหมัก เมล็ดโกโก้หลังคั่ว และผงโกโก้ ซึ่งประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เถ้า เยื่อใย (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)) โดยวิธีมาตรฐาน Analytical Methods (AOAC) พบว่ามี วัตถุแห้ง 95.38-97.69% เถ้า 2.92-8.33% เยื่อใย 20.23-28.99% ไขมัน 22.94-41.45% โปรตีน 14.0-22.2% คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยง่าย 8.1-25.0%

ผลการศึกษาองค์ประกอบทางด้านเคมี ข้อมูลลักษณะเด่นของผลิตผลโกโก้เมล็ดผ่านกระบวนการต่างๆ จนเป็นโกโก้ผง พบว่า มีค่าความเป็นกรดอยู่ในช่วง pH กรดอ่อน ไปจนเกือบๆ กลาง (pH 5.22 – 7.19) แต่ถือว่าเป็นเมล็ดโกโก้ที่มีค่า pH สูง ที่อาจเกิดจากกระบวนการหมักที่นานเกินไปทำให้กลิ่น - รส ผิดปกติ มีการผลิตกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ คือ มี lauric (C-12), oleic (C-16) และ palmitic (C-18) นอกจากนี้ปริมาณกรดอินทรีย์ที่ส่งผลต่อกลิ่น-รส คือกรดซิกตริกและอะซิติก ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณที่พบในสารอินทรีย์ระเหยได้ สำหรับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์นั้นพบในตัวอย่างเมล็ดโกโก้คั่วนั้นในปริมาณมากที่สุด เนื่องจากผ่านกระบวนการหมักและคั่วแต่ยังไม่มีการบีบโกโก้บัตเตอร์ออก ทั้งนี้เมื่อพิจารณาจากค่า อะมิโนโปรไฟล์ และสารประกอบอินทรีย์ระเหยได้ พบว่าปริมาณของแอสปาร์ติก

และกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ ทำให้เกิดสารประกอบแอลดีไฮด์เพิ่มขึ้นในผงโกโก้ ส่งผลให้มีกลิ่น-รส หอมดอกไม้ (floral) และน้ำผึ้ง (honey) ของช็อกโกแลตเพิ่มขึ้นในผงโกโก้มากกว่าในโกโก้ดิบ

นอกจากนี้จากการตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา ในโกโก้ตามขั้นตอนการแปรรูป พบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ในเมล็ดโกโก้ดิบ เมล็ดโกโก้หลังหมัก เมล็ดโกโก้หลังคั่ว และผงโกโก้ ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน และไม่มีการปนเปื้อนของ Escherichia coli ในทุกตัวอย่างที่นำมาทดสอบ รวมถึงไม่พบสารพิษโอคราท็อกซิน เอ ในตัวอย่าง จากความสัมพันธ์ปริมาณของเชื้อราทั้งหมดที่ตรวจวิเคราะห์

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยและนวัตกรรมจากสำนักการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2564 และขอขอบคุณ โปรแกรมวิทยาศาสตร์กายภาพและโปรแกรมวิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำหรับสาธารณูปโภค อุปกณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

[1] สัณห์ ละอองศรี. (2558, 8 สิงหาคม). พันธุ์โกโก้ในประเทศไทย. https://www.cocoathailandcenter.com/

[2] ไทย พี บี เอส. (2561, 23 เมษายน). วิเคราะห์ “โกโก้” พืช เศรษฐกิจ ใหม่ ร่วง หรือ รอด?. https://news.thaipbs.or.th/content/276088?sfns=1

[3] เชียงใหม่นิวส์. (2561, 8 สิงหาคม). ส่งเสริมเกษตรกรปลูกโกโก้ พืชทางเลือกลดเผาป่าภาคเหนือ.https://www.chiangmainews.co.th/page/archives/719132/

[4] ศุภางค์ จำเนียรกุล. (2558). การพัฒนาสารสกัดเปลือกโกโก้เพื่อใช้ในทางเครื่องสำอาง. ภาควิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

[5] Anon. (1984). Cocoa Bean (3rd ed.). London. Haines Clark Co.ltd.

[6] V. Barisic, M. Kopjar, A. Jozinovic, I. Flanjak, B. Milicevic, D. Subaric, S. Jokic, J. Babic, D. Ackar, (2019). The chemistry behind Chocolate production. Molecules, 24, 3163.

[7] SoilGrids - global gridded soil information. (2563, 9 สิงหาคม) https://soilgrids.org/

[8] คู่มือการปฏิบัติงาน. (2533). กระบวนการวิเคราะห์ตรวจสอบดินทางเคมี (แก้ไขครั้งที่ 01). กรมพัฒนาที่ดิน.

[9] AOAC (1990). Official Method of Analysis of the Association of Analytical Chemists (15thed.). Association of Official Chemists, U.S.A. p1214.

[10] AOAC (2000). Official methods of analysis, Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.

[11] Afoakwa, E.O. (2010). Chocolate Science and Technology. Wiley-Blackwell, Chichester, U.K., 58e71.

[12] กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2558). วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร เล่มที่ 3 (Standard Methods for Food Analysis, Volume III) (พิมพ์ครั้งที่ 1).

[13] V. Tournas, M. E. Stack, P. B. Mislivec, H.A. K. R. Bandler (2001). Bacteriological Analytical Manual, (8th Ed.). Revision A, Chapter 18. FDA.

[14] X.W. Qin, J.X. Lai, L.H.Tan, C.Y.Hao, F.P.Li, S.Z. He, Y.H. Song, (2017). Characterization of volatile compounds in Criollo, Forastero, and Trinitario cocoa seeds (Theobroma cacao L.) in China. International Journal of Food Properties, 20 (10), 2261-2275.

[15] M. Padavatan, S. K. Berry, (1979). Amino acid and fatty acid profile of Malaysian cocoa beans during processing. Procceeding of Malaysian Biochemistry Society Conference (5), 137-147.

[16] N. Nael, F.S. Papilaya, (2019). Spatial Analysis of the Land Suitability for Cocoa Plantations in East Dusun District. Journal of Applied Geospatial Information (3), 228-234.

[17] W. Niether, A. Glawe, K. Pfohl, N. Adamtey, M. Schneider, K. Petr, E. Pawelzik, (2020). The effect of short-term vs. long-term soil moisture stress on the physiological response of three cocoa (Theobroma cacao L.) cultivars. Plant Growth Regulation (92), 295-306.

[18] Umaharan, P. (2018). Achieving sustainable cultivation of cocoa (1st ed). London: Burleigh Dodds Science Publishing.

[19] S. Jinap, P.S. Dimick, (1990). Acidic characteristics of fermented and dried cocoa bean from different counties of origin. Journal of Food Science (55), 547-550.

[20] S. Jinap, P. S. Dimick, R. Hollender, (1995). Flavour evaluation of chocolate formulated from cocoa beans from different countries. Food Control (6), 105-110.

[21] A. Lopez, V. C. Quesnel, (1973). Volatile fatty acid production in cocoa fermentation and the effect on chocolate flavor. Journal of Science Agriculture (24), 319-326.

[22] Niimoto, H., Tanitsu, K. (1974). The Quality Assessment of cocoa bean produced in Nigeria, Sabah and Papua New Guiinca. Mneiji Seika Kaishe, Ltd., Tokyo. p121.

[23] Quesnel, V.C. (1972). Cocoa curing in retrospect and proapect (4th). International Cocoa Confonference, St. Augustine, Trinidad.616 p.

[24] อรพิน ภูมิภมร, จันทนา จินดา, บุญให้ แหลมเพชร และ ปิยนุช นาคะ. (2540). การหมักโกโก้ IV : การประเมินคุณภาพทางเคมีและประสาทสัมผัสของโกโก้หมักด้วยกล้าเชื้อผสม. วิทยาสารเกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์(31), 419-428.

[25] สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.1137-2550). โกโก้ผงสำหรับใช้ในอุตสาหกรรม. กระทรวงอุตสาหกรรม

[26] กลุ่มงานวิจัยพืชอุตสาหกรรม. (2563). กลุ่มวิชาการ. สถาบันวิจัยพืชสวน. สถานการณ์การผลิตโกโก้

[27] A. C. Aprotosoaie, (2016). Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa products. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety (15), 73-91.