บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

ส้มเขียวหวาน

ส้มเป็นพืชที่จัดอยู่ในลำดับเจรัลเนียล (Geraniales) วงศ์รูทาซี (Rutaceae) วงศ์ย่อยออรันทิโอดี (Aurantiodeae) สกุลซิทรัสแอล (Citrus L.) (Swingle and Reece, 1967) แบ่งกลุ่มส้มออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ตามความสำคัญทางเศรษฐกิจ คือ ส้มหวาน (Sweet orange *Citrus sinensis (L.)* Osbeck), ส้มแมนดาริน (Mandarin) และส้มทันเจริน (Tangerine orange *Citrus reticulata* Blanco หรือ *Citrus nobilis* Lourerio) และส้มเปรี้ยว (Sour หรือ Seville orange *Citrus aurantium L.*) (Batchelor and Sinclair, 1961)

ส้มเขียวหวานอยู่ในกลุ่มส้มแมนดาริน มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ ซิทรัส เรทิคูลาทา (*Citrus reticulata*) มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเซียอาคเนย์ ในประเทศไทยมีการปลูกส้มเขียวหวานมากในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ ส้มเขียวหวานปลูกได้ในเขตร้อนและกึ่งร้อน ชอบสภาพดินร่วนปนทราย มีการระบายน้ำได้ดี การขยายพันธุ์นิยมใช้กิ่งพันธุ์ที่ได้จากการตอนและการติดตามากกว่าการปลูกด้วยเมล็ด อายุเริ่มตั้งแต่ออกดอกจนกระทั่งเก็บเกี่ยวได้ใช้เวลาประมาณ 8 - 9 เดือน ช่วงฤดูเก็บเกี่ยวผลผลิตออกสู่ตลาดประมาณเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนธันวาคม มีผลขนาดเล็ก ขนาดกลาง จนถึงขนาดค่อนข้างใหญ่ มีลักษณะทรงผลแบน เปลือกบาง ล่อน ปอกง่าย ไส้ตรงกลางกลวง กลีบแยกออกจากกันได้ง่าย พันธุ์ส้มเขียวหวานที่นิยมปลูกกันในปัจจุบันมี 3 พันธุ์คือ พันธุ์แหลมทอง พันธุ์ผิวเรียบ และพันธุ์เปลือกค่อนข้างหนา (ทัศนีย์ ประสารสุข, 2534)

ส่วนประกอบทางกายภาพของผล (สุดา ศิริกุลวัฒนา, 2535; Agricultural Research Service,1962)

ผลของผลไม้ตระกูลส้มมีส่วนประกอบทางกายภาพที่สำคัญ 3 ส่วน คือ

1. ส่วนผิวนอก เรียกฟลาเวโด (**flavedo**) ร้อยละ 10 โดยน้ำหนักของผลส้ม เป็นชั้นที่มีโครโมพลาส และ น้ำมันหอมระเหย

2. ส่วนผิวใน เรียกอัลเบโด (albedo) ร้อยละ 12-30 โดยน้ำหนักของผล มีสีขาวเพราะประกอบดวัย เพคติน และสารพวกเฮมิเซลลูโลส

3. ส่วนชั้นในสุด เรียกเอนโดคาร์ป (endocarp) ร้อยละ 50-80 โดยน้ำหนักของผล เรียกว่าเนื้อส้ม (pulp) เป็นส่วนที่กินได้แบ่งออกเป็นกลีบ แต่ละกลีบมีตัวถุงส้ม และเมล็ดบรรจุอยู่ภายในกลีบ

คุณค่าทางโภชนาการของส้ม

ปริมาณสารอาหารในน้ำคั้น แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของน้ำส้มคั้น (Agricultural Research Service, 1962)

สารอาหาร	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (%)
คาร์โบไฮเดรต	76
กรดอินทรีย์	9.6
กรดอะมิโนอิสระ	5.4
อิออนอนินทรีย์	3.2
วิตามิน	2.5
ไขมัน	1.2
ไนโตรเจนเบส และ กลูตาไธโอน	0.9
ฟลาโวนอยด์	0.8
สารประกอบที่ให้กลิ่นรสที่ระเหยได้	0.38
คาโรทีนอยด์	0.013
เอนไซม์	-
	99.993

องค์ประกอบทางเคมีของผลส้ม

ส้มประกอบด้วยสารประกอบหลายชนิดซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1. คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) ในน้ำส้มมีร้อยละ 80-90 ของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในรูปของน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส ซูโครส และแรมโนสปริมาณเล็กน้อย (Kefford and Chandler, 1970) กล่าวคือ ในน้ำส้มสดที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ร้อยละ 11 จะมีน้ำตาลทั้งหมดร้อยละ 7-9 และอัตราส่วนของซูโครส ต่อ กลูโคส ต่อ ฟรุกโตส เท่ากับ 2 : 1 : 1 (Ting, 1980; มนตรี อิสรไกรศีล, 2527) ผลไม้ตระกูลส้มแต่ละชนิดเมื่อสุกเต็มที่จะมีปริมาณน้ำตาลแตกต่างกันไป ส้มแมนดาริน มีน้ำตาล ฟรุกโตส กลูโคส และซูโครส ในสัดส่วนเท่ากัน มะนาว (limes และ lemons) มีน้ำตาลฟรุกโตส และกลูโคส มากกว่าซูโครส ส่วนส้มทันเจริน มีน้ำตาลซูโครสมากกว่าน้ำตาล ฟรุกโตสและกลูโคส (Agricultural Research Service, 1962) ในระหว่างการเจริญเติบโตของผลส้มปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณกรดลดลง (Kefford and Chandler, 1970; Sinclair, 1961) ส้มพวกแมนดาริน ทันเจริน และ เกรพฟรุต มีของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาล แต่ในมะนาวจะเป็นกรดซิตริก คาร์โบไฮเดรตที่มีมวลโมเลกุลสูง และที่มีปริมาณเล็กน้อยในน้ำส้ม ได้แก่ เซลลูโลส แป้ง เฮมิเซลลูโลส เพนโตแซน และเพคติน ซึ่งคาร์โบไฮเดรตเหล่านี้เมื่อถูกไฮโดรไลซ์จะให้น้ำตาล และอนุพันธ์ของน้ำตาล (Agricultural Research Service, 1962) ในช่วงการคั้นน้ำแรงบีบจะทำให้คาร์โบไฮเดรตที่มีมวลโมเลกุลสูงในชั้นออร์แกเนลล์และไซโตพลาซึม จะเกิดเป็นสารแขวนลอยอยู่ในน้ำคั้น ซึ่งสารแขวนลอยนี้ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 30 เฮสเปอริดิน (hesperidin) ร้อยละ 20 เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 15 และเพคติน ร้อยละ 5 ทำให้น้ำคั้นขุ่นซึ่งเป็นลักษณะที่ต้องการในอุตสาหกรรมน้ำส้ม (Bennett, 1987)

การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต วิเคราะห์เป็นค่าองศาบริกซ์ (^{o}Brix) ซึ่งค่าองศาบริกซ์จะรวมถึงสารที่ละลายได้ทั้งหมดคือค่ากรดอินทรีย์ เกลือ สารไนโตรเจน และเพคติน (Kimball, 1991)

2. กรดอินทรีย์ (Organic acids) ในน้ำส้มสดมีกรดอินทรีย์ร้อยละ 10 ของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ กรดตัวแรกที่พบในน้ำส้ม คือ กรดซิตริก ในส้มทุกสายพันธุ์จะมีกรดซิตริก ซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่มีปริมาณมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 80-90 ของปริมาณกรดในน้ำคั้นของผลส้มสุก (Ting, 1980) เมื่อผลส้มโตเต็มที่ปริมาณกรดจะลดลง ส่วนกรดมาลิกเป็นกรดอินทรีย์มีปริมาณร้อยละ 10 ของปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำส้มสด ปริมาณของกรดมาลิกค่อนข้างคงที่ตลอดช่วงการเจริญเติบโต (Kimball, 1991) กรดอินทรีย์อื่นๆ เช่น กรดทาร์ทาริก กรดเบนโซอิก กรดซัคซินิก กรดออกซาลิก และกรดฟอร์มิก มีปริมาณเล็กน้อย เกลือโปตัสเซียม และโซเดียมของกรดซิตริก มีปริมาณร้อยละ 20 ของเกลือของกรดทั้งหมด ซึ่ง

เกลือเหล่านี้เป็นบัฟเฟอร์ ช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลง pH อย่างรวดเร็วของน้ำส้ม

3. วิตามินซี (Ascorbic acids) ในน้ำส้มมีปริมาณวิตามินซี 30-70 มก./100 มล. และจะมีปริมาณแตกต่างกันในส้มแต่ละชนิด ในน้ำเกรพฟรุตมี 45 มก./100 มล. ส้มแมนดาริน 50 มก./100 มล. น้ำมะนาวเลมอน 60 มก./100มล. น้ำส้มทันเจริน และมะนาวไทย (lime) มี 30 มก./100มล. ปริมาณวิตามินซีในส้มขึ้นกับ สภาพอากาศ พันธุ์ สารอาหารในดิน วิธีการปฏิบัติดูแล (Agricultural Research Service, 1962) ปริมาณวิตามินซีจะลดลงในระหว่างการเจริญเติบโต พบว่าส้มแมนดารินที่ปลูกในรัฐฟลอริด้า ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มสด (single-strength juice) จากผลอ่อนมีปริมาณ 50 มก./100มล. ส่วนปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มจากผลสุกเต็มที่มีปริมาณ 30 มก./100มล. ส้มทันเจรินมีการเปลี่ยนแปลงของวิตามินซีในระหว่างการเก็บรักษาดังนี้ ที่อุณหภูมิ 32-33 $^{\circ}$F เวลา 8 สัปดาห์ วิตามินซีสูญเสียเล็กน้อย แต่ที่อุณหภูมิ 35-38°F การสูญเสียจะเพิ่มขึ้น ซึ่งการสูญเสียเกิดพร้อมกับการลดลงของปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำส้ม (Kimball, 1991)

สำหรับน้ำส้มคั้นที่วางขายตามท้องตลาด พบว่าสูญเสียวิตามินซีน้อยกว่าร้อยละ 10 ซึ่งบ่งชี้ถึงเสถียรภาพของวิตามินซีในน้ำคั้น ภาวะบรรยากาศของก๊าซออกซิเจนมีผลต่อการสูญเสียวิตามินซี นอกจากนี้ภาชนะบรรจุที่เป็นพอลิเมอร์ ยอมให้ออกซิเจนผ่านได้ ซึ่งมีผลทำลายวิตามินซี ทำให้น้ำส้มคั้นเกิดกลิ่นรสแปลกปลอม และสีเปลี่ยนไป (Kimball, 1991)

4. สารประกอบไนโตรเจน (Nitrogenous compounds) ในน้ำส้มสดมีปริมาณ 60-120 มก./100มล. (Ting, 1967) ปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้อยู่ในรูปกรดอะมิโนอิสระมากกว่าร้อยละ 70 ในส้มสดทุกชนิดยกเว้นเกรพฟรุต จะมีกรดอะมิโนโปรลีน มากที่สุด รองลงมาคือกรดแอสปาร์ติก (Kefford and Chandler, 1970) คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนขึ้นอยู่กับสัดส่วนการใช้โปรตีน (Protein Efficiency Ratio , PER) ในอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีนที่ดีนั้นมีค่า PER ของเคซีนอย่างน้อยร้อยละ 20 แต่ผลิตภัณฑ์น้ำส้มมีค่า PER ต่ำ ดังนั้นน้ำส้มจึงเป็นแหล่งโปรตีนที่ไม่ดี (Kimball, 1991)

5. สี (Color) สีของผลไม้ตระกูลส้มเกิดจากรงควัตถุ ซึ่งอยู่ตามส่วนต่าง ๆของผล โดยทั่วไปพบในส่วนเปลือกชั้นนอก และในตัวถุงส้ม (Agricultural Research Service, 1962) ในขณะที่ผลส้มยังอ่อนอยู่สีของเปลือกเป็นสีเขียวของคลอโรฟิลล์ เอ และบี สามารถตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ใช้ในการสังเคราะห์แสงให้ผลิตผลเช่นเดียวกับการสังเคราะห์แสงที่ใบ ในช่วงการเจริญของผลเกิดมีการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ และปริมาณคาโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้น ทำให้เปลือกเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองหรือส้ม (Kefford and Chandler, 1970)

คาโรทีนอยด์ ที่สำคัญที่ทำให้เกิดสีส้มในน้ำส้มแมนดาริน และทันเจริน คือ α-carotene, β-carotene, zeta-antheraxantin (สีเหลือง), violaxantin (สีเหลือง), β-citraurin (สีส้มแดง) และ β-cryptoxantin (สีส้ม) ซึ่ง zeta-antheraxantin และ violaxantin เป็นรงควัตถุที่มีปริมาณมาก แต่ β-cryptoxantin เป็นสารหลักที่ให้สีส้มแก่น้ำส้มสด (Stewart, 1980) ในน้ำคั้นของเกรพฟรุตมีสีแดงหรือชมพูเนื่องจากไลโคปีน (Khan and Mackinney, 1953) ส่วนในส้มที่มีสีแดงเนื่องจากมีแอนโธไซยานิน (Chandler, 1958) นอกจากนี้ในส้มทันเจริน และแมนดาริน ยังมีรงควัตถุ reticulataxantin (R=OH) ซึ่งเป็น เมทิล คีโตน คาโรทีนอยด์ (methyl ketone carotenoid) และ Tangeraxanthin (Kefford and Chandler, 1970)

ส้มหวาน (sweet orange) มีปริมาณคาโรทีน 0.32-0.57 มก.ต่อน้ำส้ม 1 ลิตร ส่วนส้มทันเจรินมีปริมาณคาโรทีน 2100-2520 มก.ต่อน้ำส้ม 100 มล. (Ting and Attaway, 1971) ดังนั้น ส้มทันเจริน และแมนดาริน จัดว่าเป็นแหล่งของ provitamin A ที่ดี ในผลส้ม วิตามินเอ อยู่ในรูปของ provitamin A carotenoids โดยที่ α-carotene, β-carotene และ β-cryptoxantin เป็นสารเริ่มต้นที่สำคัญของวิตามินเอ

การทำให้ผลิตภัณฑ์น้ำส้มมีสีเข้มขึ้น FDA อนุญาตให้เติมน้ำส้มทันเจริน (*Citrus reticulata*) ร้อยละ 10 ในผลิตภัณฑ์น้ำส้ม 100 % ได้ (Kimball, 1991)

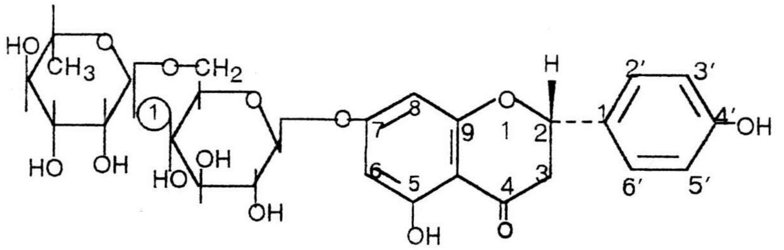
6. สารประกอบที่ให้กลิ่นรสที่ระเหยได้ ในน้ำส้มคั้นสารประกอบที่ให้กลิ่นรสที่ระเหยได้อยู่ในรูปของน้ำมัน ซึ่งน้ำมันเหล่านี้มาจากต่อมน้ำมันที่เปลือกถูกทำลายในช่วงการคั้นน้ำ สารประกอบที่ระเหยได้ที่พบในน้ำส้มคั้นคือ d-limonene ร้อยละ 90 นอกนั้นจะแตกต่างกันในส้มแต่ละชนิด เช่น ในส้มทันเจริน มี non-volatile tangeritine ร้อยละ 4 อัลกอฮอล์ 24 ชนิด อัลดีไฮด์ 11 ชนิด เอสเทอร์ 4 ชนิด คีโตน 2 ชนิด กรด 7 ชนิด ไฮโดรคาร์บอน 24 ชนิด และ อีเทอร์ 2 ชนิด (Kefford and Chandler, 1970; Kimball, 1991) สารประกอบที่ให้กลิ่นรสที่ระเหยได้ในน้ำคั้นเกรพฟรุต และส้มแมนดาริน มีปริมาณร้อยละ 0.014-0.08 และ 0.016-0.075 ตามลำดับ (Agricultural Research Service, 1962)

7. สารประกอบอนินทรีย์ ที่รู้จักคือ เถ้า ได้แก่ โปตัสเซียม มีปริมาณร้อยละ 60-70 ของอิออนบวกทั้งหมดในน้ำคั้น อาจอยู่ในรูปโปตัสเซียมซิเตรต ส่วนแคลเซียมและแมกนีเซียม จับอยู่กับเพคติน อิออนลบได้แก่ ฟอสเฟต ซัลเฟต คลอไรด์ และ ไนเตรต จะจับกับอิออนบวก โบรมีน ฟลูออรีน มีปริมาณ 94 ไมโครกรัมต่อน้ำส้ม 100 มล. และไอโอดีนอยู่ในรูปเกลือ ธาตุอื่นๆที่มีปริมาณน้อยได้แก่ อะลูมิเนียม นิกเกิล แบเรียม โครเมียม ทองแดง ดีบุก แมงกานีส วาเนเดียม ซิลิคอน ตะกั่ว สตรอนเซียม ไทเทเนียม สังกะสี ในน้ำส้มมีทองแดงมากถึง 0.3-0.9 ส่วนในล้านส่วน มีบทบาทในการทำลายวิตามินซี (Agricultural Research Service, 1962)

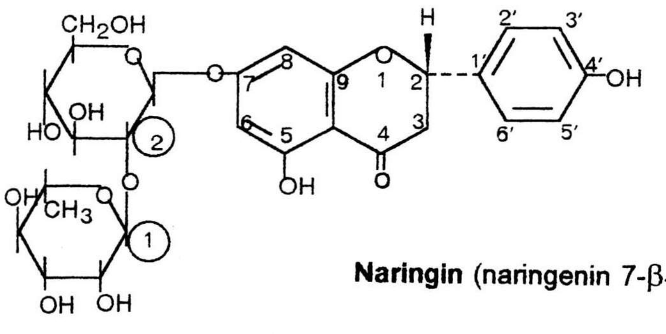
8. ฟลาโวนอยด์ และนารินจิน ฟลาโวนอยด์ในผลไม้ตระกูลส้มมี 3 ชนิด คือ ฟลาวาโนน (flavanones) ฟลาโวน (flavones) และ แอนโธไซยานิน ฟลาวาโนนเป็นฟลาโวนอยด์ที่มีปริมาณมากที่สุดในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม ส่วนแอนโธไซยานินเป็นรงควัตถุในดอกและผล พบในส้มสีแดง (Blood orange) มีความสำคัญน้อยมาก (Horowitz and Gentili, 1977)

สารประกอบฟลาโวนอยด์มีปริมาณร้อยละ 10 โดยน้ำหนักแห้งของผลส้ม ฟลาโวนอยด์ที่พบตามส่วนต่างๆ ของผลไม้ตระกูลส้มจะอยู่รวมกับโมเลกุลคาร์โบไฮเดรต รูปไกลโคไซด์ (glycosides) ฟลาโวนอยด์ที่สำคัญในส้มพันธุ์ต่างๆคือ flavanone rhamnoglycosides hesperidine เช่น นารินจิน (Agricultural Research Service, 1962)

นารินจินเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ตัวหนึ่งที่มีคาร์บอน 15 อะตอม โดยมีไดแซคคาไรด์ ที่ประกอบด้วยคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ของแรมโนส ต่อกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของกลูโคส เรียกส่วนนี้ว่า neohesperidoside (2-O (rhamnopyranosyi) glucopyranose) ซึ่งไม่มีรสขม แต่ถ้า neohesperidoside มาเชื่อมกับหมู่ไฮดรอกซิล ตำแหน่งที่ 7 ของฟลาโวโนนจะให้รสขม สารนี้คือนารินจิน (4′,5,7-trihydroxyflavonone 7-rhamnoseglucoside) ส่วนไอโซเมอร์ของนารินจิน คือ นาริรูทิน (narirutin) นั้นไม่มีรสขม เกิดจากคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ของแรมโนส ต่อกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ของกลูโคส เรียกส่วนนี้ว่า รูทิโนส (rutinose) (6-O (rhamnopyranosyl) glucopyranose) เชื่อมกับหมู่ไฮดรอกซิลของฟลาโวโนน (Horowitz and Gentili, 1977)



Narirutin (naringenin 7-β-rutinoside)



Naringin (naringenin 7-β-neohesperidoside)

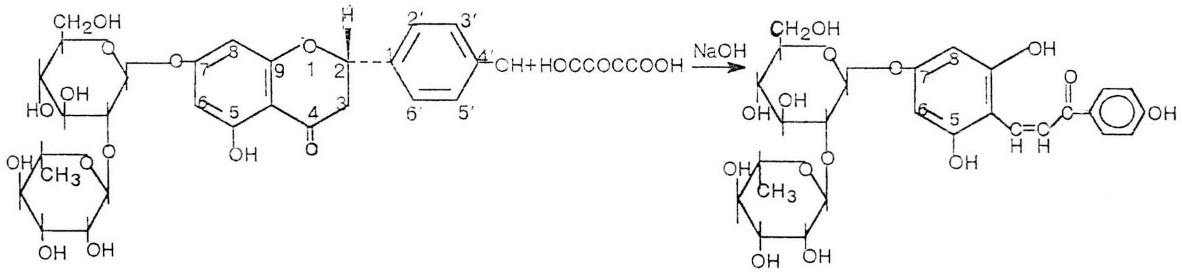
ในขณะที่ผลส้มยังอ่อนอยู่ นารินจินอยู่ในรูป 2S configuration มีปริมาณร้อยละ 90 และ 2R ปริมาณร้อยละ 10 แต่เมื่อส้มสุกเต็มที่นารินจินในรูป 2S และ 2R จะมีปริมาณ

ร้อยละ 60 และ 40 ตามลำดับ (Horowitz and Gentili, 1977) นารินจินเกิดจาก **naringin chalcone** ซึ่งเป็นสารต้นตอของนารินจิน จะเปลี่ยนเป็นนารินจิน 2S โดยเอนไซม์ Chalcone-flavanone isomerase เมื่อส้มสุกเต็มที่เอนไซม์นี้จะหมดไปหรือไม่มีแอคติวิตี นารินจินจะเข้าสู่สมดุลอย่างรวดเร็วกับ chalcone โดยกระบวนการที่ไม่อาศัยเอนไซม์

นารินจินมีสูตรอย่างง่าย $C_{27}H_{32}O_{14}$ น้ำหนักโมเลกุล 580 ดาลตัน ละลายได้ในน้ำ มีจุดหลอมเหลว 81-83 องศาเซลเซียส พบมากในเปลือกชั้นใน เปลือกชั้นนอก ผนังกลีบส้ม และตัวถุงส้ม (Horowitz and Gentili, 1977) นารินจินพบน้อยในส้มหวาน (*Citrus sinensis*) , เลมอน (*Citrus limon*) , มะนาวไทย (*Citrus aurantifolia*) และ ส้มทันเจริน (*Citrus reticulata*) (Albach and Redman, 1969)

ปริมาณนารินจินในน้ำระดับที่สามารถรับความรู้สึกได้ (threshold level) ประมาณ 20 มก./100มล. (Guadagni, Maier and Turnbaugh, 1973) แต่ปริมาณนารินจินในน้ำส้มระดับที่สามารถตรวจสอบได้ 700 ส่วนในล้านส่วน ในผลิตภัณฑ์น้ำส้มแมนดาริน หรือทันเจริน ความขมจะทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ลดลง ในขณะที่น้ำส้มเกรพฟรุต ต้องการให้มีความขมบ้างเล็กน้อย (Kimball, 1991)

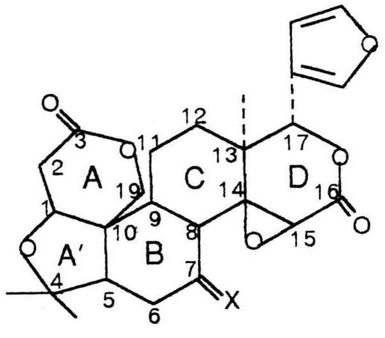
การวิเคราะห์ปริมาณนารินจินสามารถวิเคราะห์ได้หลายวิธี (Ting and Rouseff, 1986) แต่อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ด้วยสเปกโตรโฟโตรเมตรี (Spectrophotometric) ตามวิธีของ Davis (1947) เป็นวิธีที่ใช้กันทั่วไป เกี่ยวกับปฏิกิริยาของ นารินจินกับ diethylene glycol (DEG) ในสารละลายด่างเจือจางเกิดเป็น chalcone ซึ่งมีสีเหลืองมีปฏิกิริยาดังนี้



นารินจิน DEG chalcone(yellow)

420 nm

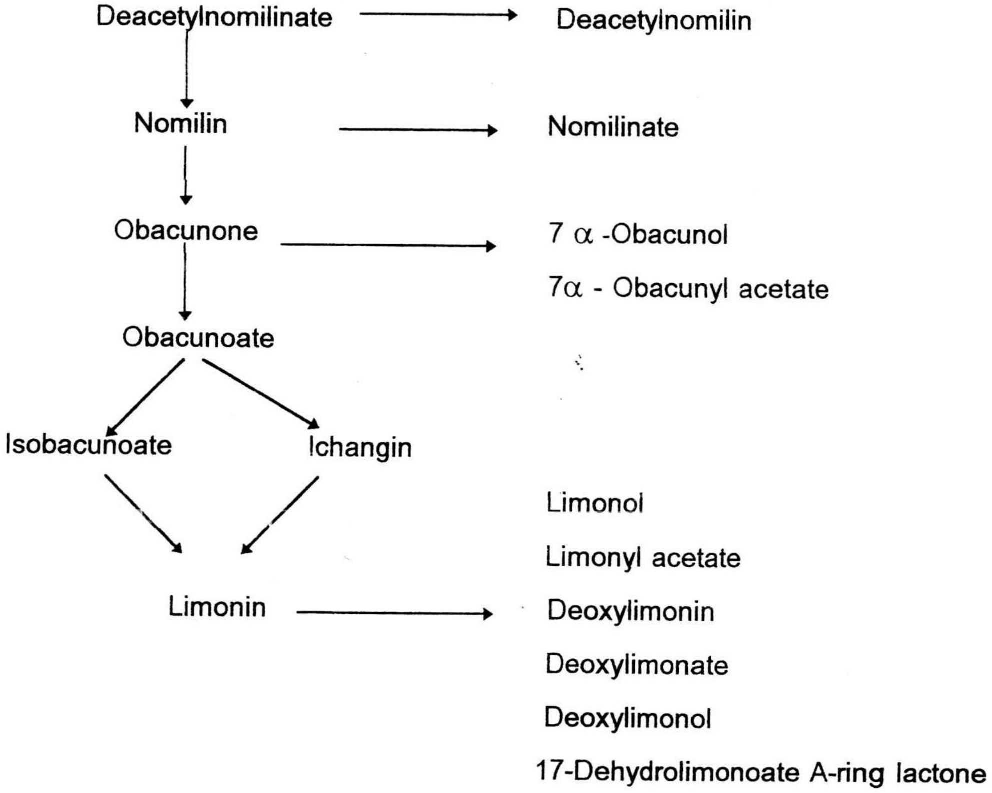
9. ลิโมนอยด์ (Limonoids) พบในผล และเมล็ดของพืชตระกูลส้ม วงศ์รูทาซี Rutaceae และเมเลียซี Meliaceae ลิโมนอยด์ที่พบมากที่สุดคือ ลิโมนิน เป็นสารอยู่ในกลุ่มอนุพันธ์ oxidized triterpenes ประกอบด้วยแหวนฟูแรน 1 วง , แหวนแลคโทน 1 วง , แหวนอีเทอร์ 1 วง และอิปอกไซด์ 1 หมู่



I. Limonin X= O

II. Limonol X=α-OH ,β -H

ลิโมนินมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว มีสูตรอย่างง่าย (empirical formula) $C_{26}H_{30}O_8$ มวลโมเลกุล 470.5 ดาลตัน มีจุดหลอมเหลว 555-557° F ละลายในอัลกอฮอล์ อะซีโตน คลอโรฟอร์ม และเบนซีน ไม่ละลายน้ำ (Higby, 1941) ลิโมนินถูกสังเคราะห์ขึ้นในส่วนเปลือกชั้นใน ของผลไม้ตระกูลส้ม (Kefford and Chandler, 1970) ดังนี้

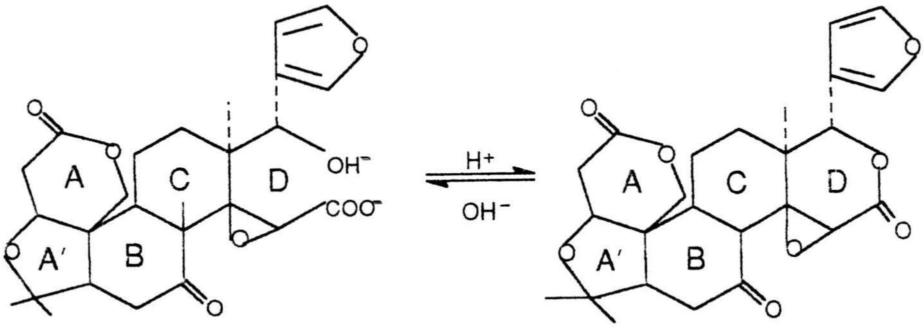


วิถีทางการสังเคราะห์ของลิโมนินในผลไม้ตระกูลส้ม (Hasegawa and Maier, 1990)

โดยที่ **Deacetylnomilinate** เป็นตัวเริ่มต้นในกระบวนการสังเคราะห์ของลิโมนิน (Hasegawa and Maier, 1990)

ลิโมนินพบมากในน้ำส้มคั้น ซึ่งมีรสขมและทำให้คุณภาพของน้ำส้มคั้นลดลง Maier and Beverly (1968) สันนิษฐานว่าเกิดจากสารต้นตอของลิโมนินคือ limonin

monolactone หรือ limonoic acid A-ring lactone ซึ่ง A-ring ปิด และ D-ring เปิด จะเสถียรในรูปเกลือ ไม่มีรสขม เป็นกรด สามารถเคลื่อนที่ได้จากใบมาที่ผล มีปริมาณมากในเมล็ด เปลือกชั้นใน ผนังกลีบส้ม และไซโทพลาซึม ของตัวถุงส้ม ซึ่งในช่วงการคั้นน้ำทำให้เมล็ดฉีกขาดและอนุภาคเล็ก ๆ ของเปลือกชั้นใน ปะปนลงในน้ำคั้น เมื่อได้รับความร้อนและในภาวะที่ pH ต่ำ เอนไซม์ limonoate D-ring lactone hydrolase ทำให้สารต้นตอของลิโมนินเปลี่ยนรูปอย่างช้าๆ ไปเป็นลิโมนิน หรือ bitter dilactone ซึ่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาขึ้นกับการให้ความร้อนและ pH ของน้ำคั้น



Limonin A-ring lactone (non bitter) Limonin (bitter)

ในสารละลายน้ำตาลซูโครสร้อยละ 1-10 ลิโมนินละลายได้ 1-8 ส่วนในล้านส่วน (Chandler, 1971) ในน้ำคั้นเพคตินและองค์ประกอบอื่นๆ ที่มีโครงสร้างซับซ้อนจะเพิ่มการละลายของลิโมนินซึ่งเป็นผลมาจากพันธะไฮโดรเจน ดังนั้นในช่วงการคั้นน้ำลิโมนินไม่ถูกปลดปล่อยออกมาทั้งหมด แต่ปริมาณลิโมนินเพิ่มขึ้นจากปฏิกิริยาชีวเคมี รวมทั้งเกิดจากสารต้นตอของลิโมนินในกระบวนการแมแทบอลิซึม (metabolism) ของลิโมนิน และภาวะสมดุลกับ aqueous-phase limonoid glycosides ดังนั้นในช่วงการคั้นน้ำ การพาสเจอไรซ์ การทำให้น้ำส้มเข้มข้น และในช่วงการเก็บรักษา จะชักนำให้เกิดรสขมและกลิ่นรสไม่ดี

ผู้ทดสอบสามารถรับรสขมของปริมาณลิโมนินในน้ำกลั่นได้ที่ 1 ส่วนในล้านส่วน แต่ในน้ำส้มคั้นสามารถตรวจสอบได้ที่ 6.4 ส่วนในล้านส่วน ที่ pH 3.8 ในขณะที่ pH 3.2-3.5 และ pH 4.1-4.7 นั้น ระดับลิโมนินในน้ำส้มสามารถตรวจสอบได้ที่ 3.4 ส่วนในล้านส่วน เนื่องจากในน้ำส้มมีองค์ประกอบต่างๆ เช่น น้ำตาล และกรด จะบดบังระดับความขมได้ (Guadagni et al., 1973) ในกระบวนการลดความขมของลิโมนินในน้ำส้มคั้น มีการปรับ pH ของน้ำส้มคั้นให้มี pH สูงกว่า 3.9 หรือต่ำกว่า 3.7 ถ้าปรับ pH มากกว่า 3.9 ใช้ sodium citrate (food grade) ถ้าปรับ pH ต่ำกว่า 3.7 โดยการเติมกรดซิตริก (Maier, Bennet and Hasegawa, 1977) จากรายงานการวิจัยพบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่สามารถตรวจสอบรสขมในน้ำส้มที่มีลิโมนิน 6 ส่วนในล้านส่วน ขณะที่ผู้บริโภคประมาณร้อยละ 20 สามารถตรวจสอบรสขมจากลิโมนินที่ความเข้มข้น 2 ส่วนในล้านส่วน (Norman et al., 1990)

ได้มีรายงานการวิจัยว่าลิโมนินในผลไม้ตระกูลส้มอาจใช้เป็นสารป้องกันการก่อมะเร็งได้ (Lam, Zhang and Hasegawa, 1994) แต่ถ้าปริมาณลิโมนินได้รับมากจะทำให้เกิดการเบื่ออาหาร ซึ่งจากรายงานการวิจัยพบว่าลิโมนินใช้เป็นสาร antifeedant ต่อ Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) และแมลงอื่นๆ เนื่องจากโครงสร้างของลิโมนินที่มี ฟูแรน 1 วง และ อิปอกไซด์ (Bentley et al., 1990)

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณลิโมนินในน้ำส้มมีหลายวิธี ได้แก่ สเปกโตรโฟโตรเมตริก ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (Thin layer chromatography TLC) , แก๊สโครมาโตรกราฟี (Gas chromatography GC), เรดิโออิมมูโนแอสเสย์ (Radio immunoassay RIA) , เอนไซม์ลิงค์อิมมูโนแอสเสย์ (Enzyme-linked immunoassay EIA) และ ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี (High performance liquid chromatophy HPLC) วิธีที่ใช้แพร่หลาย คือ EIA และ HPLC แต่วิธี HPLC เป็นวิธีที่มีความถูกต้องแม่นยำและน่าเชื่อถือได้ (Kimball, 1991)

การวิเคราะห์ด้วย HPLC แบ่งเป็น 4 ส่วน คือ การเตรียมตัวอย่าง การแยกสารประกอบ การตรวจวัด และการคำนวณหรือแสดงผล ในการเตรียมตัวอย่างต้องกรองตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์เพราะในน้ำส้มมีสารโมเลกุลใหญ่ที่ไม่ละลายและเป็นสารแขวนลอยจะทำให้คอลัมน์อุดตัน

ลิโมนินละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อะซีโตน อะซีโตไนตริล และคลอโรฟอร์ม แต่มักจะใช้คลอโรฟอร์มในการสกัดลิโมนิน เพราะคลอโรฟอร์มมีประสิทธิภาพในการแยกลิโมนินออกจากน้ำส้มได้ดี คลอโรฟอร์มระเหยได้ง่าย แต่อะซีโตน และอะซีโตไนตริลจะไปรบกวนพีคของลิโมนิน ซึ่งในการสกัดลิโมนินด้วยคลอโรฟอร์ม 3 ครั้ง แต่ละครั้งสามารถสกัดลิโมนินได้ประมาณร้อยละ 75 , 25 และ 5 ตามลำดับ การวิเคราะห์ปริมาณลิโมนินใช้ระบบ isocratic หรือ single pump แบบ normal phase ใช้ cyano (CN) คอลัมน์ เพราะตัวกลางมีขั้วสามารถเข้ากันได้ดีกับลิโมนิน ส่วน detector ใช้ ultraviolet detection ซึ่งลิโมนินสามารถดูดกลืนแสงที่ 207 นาโนเมตร แต่อย่างไรก็ตาม องค์ประกอบอื่นๆ ที่ถูกสกัดออกมาพร้อมกับลิโมนินจะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกันนี้ เป็นสาเหตุทำให้เกิด noise (Kimball, 1990)

กระบวนการผลิตน้ำส้ม

ขั้นตอนการผลิตผลิตภัณฑ์น้ำส้มชนิด single-strength แบบบรรจุกระป๋องหรือขวด เริ่มต้นด้วยการคัดคุณภาพ ทำความสะอาดผลส้ม การคั้นน้ำส้ม การแยกกากหยาบ เช่น เมล็ด ผนังกลีบส้ม และเนื้อผลไม้ ทำการไล่อากาศ พาสเจอไรซ์ บรรจุกระป๋องขณะที่น้ำส้มมีอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ผนึกกระป๋องและทำให้เย็น ในขั้นตอนการคั้นน้ำส้มจะมีทั้ง pulp (ผนังกลีบส้มและตัวถุง) เปลือกชั้นในแตกออก และน้ำมันหอมระเหยจะออกจากเปลือกชั้นนอก การใช้แรงดันสูงเพื่อที่จะได้น้ำส้มมากนั้นมีผลต่อทั้งทางด้านรสชาติ และความคงตัว ของน้ำส้ม

โดยทั่วไปการคั้นน้ำจะใช้เครื่องคั้นน้ำด้วยมือ (hand reamers) แต่ปัจจุบันในอุตสาหกรรมใช้เครื่องคั้นน้ำอัตโนมัติ

วิธีการควบคุมรสขมในน้ำส้ม

ได้มีรายงานเกี่ยวข้องกับวิธีการลด และการกำจัดรสขมในน้ำส้ม เพื่อควบคุมให้มีปริมาณเหมาะสมไม่ทำลายคุณภาพผลิตภัณฑ์น้ำส้ม ไว้หลายวิธีดังสรุปได้ดังนี้

1. การควบคุมระยะเวลาการเก็บเกี่ยว (Time of harvest)

ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวผลส้ม เป็นปัจจัยสำคัญต่อปริมาณลิโมนินในน้ำส้มคั้น ส้มที่เก็บในต้นฤดู ก่อนสุกเต็มที่จะมีปริมาณลิโมนินสูงและจะลดลงเมื่อเวลาผ่านไปส้มพันธุ์มาร์ช (Marsh) และพันธุ์แฮมลิน (Hamlin orange) จากมลรัฐเท็กซัสใต้ ที่ต่างๆ กัน 5 แหล่งพบว่าในช่วงเดือนกันยายน ส้มจะมีความเข้มข้นของลิโมนิน 6.2 ส่วนในล้านส่วน ในช่วงเดือนมกราคมจะเหลือ 1.8 ส่วนในล้านส่วน

2. การควบคุมพันธุ์และต้นตอ (Choice of Rootstock)

ส้มแมนดารินที่เจริญบนต้นตอของส้มสามใบ (Trifoliate orange), ส้มคลีโอพัตรา (Cleopatra) และส้มนาเวล (navel) จะมีปริมาณลิโมนินต่ำ แต่ส้มแมนดารินที่เจริญบนมะนาวหวาน (sweet lime) และมะนาวอินเดียตะวันออก (East India Lime) มีปริมาณลิโมนินสูง (Kefford and Chandler, 1970)

3. การควบคุมทางชีวภาพ (Bioregulatory systems)

ส้มพันธุ์นาเวล หลังการเก็บเกี่ยวฉีดพ่นก๊าซเอธิลีน 20 ส่วนในล้านส่วน เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน ระดับลิโมนินในน้ำส้มคั้นลดลงเหลือ 13.2 ส่วนในล้านส่วน เมื่อเปรียบเทียบกับส้มที่เก็บโดยปราศจากการพ่นด้วยก๊าซเอธิลีน ซึ่งในน้ำส้มคั้นมีปริมาณลิโมนิน 19.4 ส่วนในล้านส่วน ส่วนน้ำส้มที่คั้นจากส้มสดมีปริมาณลิโมนิน 24.3 ส่วนในล้านส่วน (Maier, Brewster and Hsu, 1973) การใช้ก๊าซเอธิลีนกับผลส้มที่มีปริมาณลิโมนินปานกลางสามารถลดปริมาณลิโมนินได้ร้อยละ 35-45 ของปริมาณลิโมนินในส้มที่ไม่ได้ใช้ก๊าซเอธิลีน แต่ถ้าส้มได้รับก๊าซเอธิลีนมากเกินไปจะทำให้เกิดกลิ่นรสแปลกปลอมได้ Maiers และคณะ (1973) ใช้ก๊าซเอธิลีน 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ลดความขมในส้มนาเวลเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จะช่วยเร่งแมแทบอลิซึมของลิโมนอยด์ นอกจากนี้ยังมีการใช้สารเคมี

อื่นๆ เพื่อยับยั้งการสังเคราะห์ลิโมนอยด์ เช่น 2-chloroethylphosphoric acid (CEPA) และอนุพันธ์ของไตรเอทิลอะมีน (Triethylamine derivatives) แต่เป็นวิธีที่ไม่ค่อยได้ผล

4. การควบคุมกระบวนการผลิต (Process control)

ความขมในน้ำส้มคั้นขึ้นอยู่กับปริมาณเปลือกชั้นใน เนื้อเยื่อชั้นกลาง และเนื้อเยื่อบางกั้น (carpellary membranes) ที่ปนลงในน้ำส้มคั้น และระยะเวลาที่เนื้อเยื่อต่างๆ อยู่ในน้ำส้มคั้น (Higby, 1941) การตัดส่วนหัวและท้ายของผลส้มออกจะช่วยลดแรงคั้น การแยกเนื้อออกจากน้ำโดยให้น้ำส้มคั้นไหลผ่านตะแกรงสั่น (vibrating screen) ขนาดรู 20 เมช และการปอกเปลือกส้มโดยแช่ด้วยด่าง วิธีเหล่านี้เป็นวิธีที่สามารถลดรสขมได้ ส่วนการคั้นน้ำส้มด้วยเครื่อง Taglith press จะทำให้ขาดรสชาติของน้ำส้ม ในการทำผลิตภัณฑ์น้ำส้มกระป๋อง การใช้แรงดันในการเพิ่มผลได้ของน้ำส้มคั้นแบบใช้แรงสกัดไม่รุนแรง พบว่ามีปริมาณลิโมนินน้อยกว่าการใช้แรงดันสูง ซึ่งการใช้แรงดันน้อยจะให้น้ำส้มคั้นต่ำ และทำให้มี limonoic acid A-ring lactone ในน้ำส้มคั้น แต่ไม่ว่าจะเป็นการคั้นแบบใดก็ตามจะพบ limonoic acid A-ring lactone เสมอ (Brewster, Hasegawa and Maier, 1976)

5.การใช้เอนไซม์และจุลินทรีย์

การใช้เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบในน้ำส้มเช่น น้ำตาล เพคติน จะมีผลต่อการละลายและการตกผลึกของลิโมนิน กล่าวคือ เมื่อใช้เอนไซม์เพคติเนส ไปย่อยสารประกอบเพคตินในน้ำส้ม จะดึงเอาสารให้รสขมตกตะกอนลงมาด้วย และการใช้เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับสารให้รสขมที่มีอยู่ในน้ำส้ม เปลี่ยนเป็นสารที่ไม่ให้รสขมหรือรสขมน้อยลงด้วยเอนไซม์นารินจิเนส (naringinase) จากเชื้อรา ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วย แอลฟา-แรมโนสิเดส และ เบต้า-กลูโคสิเดส นั้นสามารถไฮโดรไลซ์นารินจิน ไปเป็น พรูนิน (prunin) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (Hasegawa and Maier, 1983) ส่วนเอนไซม์ลิโมโนเอทดีไฮโดรจิเนส (limonoate dehydrogenase) ของ *Arthrobacters globiformis* ป้องกันการเกิดลิโมนิน หรือลดรสขมของลิโมนินในน้ำส้มนาเวลได้ (Hasegawa and Brewster, 1973) และเอนไซม์ลิโมโนเอทดีไฮโดรจีเนส จากเซลล์จุลินทรีย์ *Corynebacterium fascians* (NRRL-B-15096) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส pH 6.0 ทำปฏิกิริยา 2 ชั่วโมง สามารถลดปริมาณลิโมนินจาก 5.2 ส่วนในล้านส่วน เป็น 1.79 ส่วนในล้านส่วน คิดเป็นการลดลงร้อยละ 65 โดยน้ำหนัก (อัจฉรา ปิติปัญญากุล, ปราณี อ่านเปรื่อง และชัยยุทธ ธัญพิทยากุล, 2532)

6.การใช้ตัวดูดซับ

หลักการคือ ใช้ตัวดูดซับดูดซับสารให้รสขมในน้ำส้มทำให้รสขมลดลงหรือหมดไป นักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้พยายามใช้ตัวดูดซับชนิดต่างๆ ในการกำจัดรสขมซึ่งให้ผลและมีประสิทธิภาพต่างๆ กันดังนี้

McColloch (1950) ศึกษาโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ ในการดูดซับลิโมนิน และสารต้นตอของลิโมนินจากน้ำส้มพันธุ์นาเวล พบว่าน้ำส้ม ไม่สูญเสียกลิ่นรสน้ำส้ม แต่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เช่น สี และมีกลิ่นกำมะถัน ในบางครั้งอาจมีผงคาร์บอนเข้าปะปนในน้ำส้ม

Chandler, Kefford และ Ziemelis (1968) ใช้ โพลีอาไมด์ กำจัดลิโมนิน และนารินจินในน้ำส้มคั้นพันธุ์นาเวลได้ และ โพลีอาไมด์ มีความจำเพาะในการดูดซับนารินจินได้ดีกว่าลิโมนิน นอกจากนี้ยังดูดซับกรดแอสคอบิกทำให้สูญเสียถึงร้อยละ 30

Chandler และ Johnson (1977) ใช้ เซลลูโลสอะซีเทต ซึ่งมีความจำเพาะในการดูดซับลิโมนิน และมีประสิทธิภาพสูงกว่าโพลีอาไมด์ถึง 3 เท่า และดูดซับกรดแอสคอบิกเพียงเล็กน้อย

Magnolato (1981) ใช้ตัวดูดซับพวกลิกนิน ซึ่งได้จากเมล็ดคารอบ (carob seed) ดูดซับลิโมนิน

Konno และคณะ (1981,1982) ใช้เบต้าไซโคลเดกซ์ทริน (soluble β-cyclodextrin monomer) เพื่อลดรสขมของลิโมนินและนารินจินในน้ำส้มเกรพฟรุต, ส้มไลโอ (Iyo orange) และส้มนัทซุไดได (Citrus natsudaidai)

Shaw และ Wilson (1983) ใช้พอลิเมอร์เบต้าไซโคลเดกซ์ทรินที่ไม่ละลาย (insoluble β-cyclodextrin polymer) ในการดูดซับนารินจินและลิโมนินจากน้ำส้มแมนดารินและเกรพฟรุต ที่ผ่านการกรองทั้งในกระบวนการต่อเนื่องและไม่ต่อเนื่อง ลดปริมาณลิโมนินและนารินจินได้มากกว่าร้อยละ 50 และไม่มีการสูญเสียวิตามินซี

Shaw, Tatum และ Wilson (1984) ใช้เบต้าไซโคลเดกซ์ทริน ดูดซับลิโมนิน นารินจิน และโนมิลิน ในเกรพฟรุต และดูดซับลิโมนินและโนมิลินในน้ำส้มนาเวล ทั้งในกระบวนการต่อเนื่องแบบฟลูอิไดซ์ หรือในกระบวนการไม่ต่อเนื่อง น้ำส้มที่ผ่านกระบวนการมีรสชาติเป็นที่ยอมรับเมื่อเทียบกับน้ำส้มที่ไม่ผ่านกระบวนการดูดซับ

Wagner, Wilson และ Shaw (1988) นำเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินใช้กับระดับไพลอตโดยใช้คอลัมน์แบบฟลูอิไดซ์ในการลดปริมาณลิโมนินและนารินจินในเกรพฟรุต

Puri (1984) ใช้ เรซินพวกอนุพันธ์สไตรีน (crosslinked divinyl benzene-styrene adsorbent resin) ดูดซับปริมาณลิโมนินและนารินจินในเกรพฟรุต ได้ร้อยละ 90 และ 80 ตามลำดับ

Johnson และ Chandler (1982,1985) ใช้เรซินชนิดแลกเปลี่ยนประจุ (ion exchange) และ เรซินแอ็ดซอร์แบนท์ (adsorbent resin) พบว่า เรซินแลกเปลี่ยนประจุลบ (anion exchange resin) สามารถลดกรดซิตริกได้ดี เช่น Amberite IRA 401S, Duolite A 378 ซึ่งเป็นเรซินแลกเปลี่ยนประจุลบ ที่สามารถดูดซับได้ทั้งนารินจิน ลิโมนิน และกรด ส่วนพวกแอ็ดซอร์แบนท์ และเรซินแลกเปลี่ยนประจุบวก (cation exchange resin) เช่น Amberite XAD-1, XAD-2, XAD-4, XAD-16, Duolite S-861, S-866 ดูดซับทั้งนารินจิน และลิโมนิน USFDA ยังไม่อนุญาตให้ใช้ตัวดูดซับสังเคราะห์ทุกตัวกับอาหาร แต่ให้ใช้ตัวดูดซับ 4 ชนิดในการดูดซับกรดซิตริก ได้แก่ Duolite A 378, Amberite IRA 93, Duolite A 30 B, Amberite IRA 68

Barmore, Fisher และ Rouseff (1986) พบว่าฟลอริซิล (Florisil) คือแมกนีเซียมซิลิเกตที่ถูกแอคติเวต สามารถดูดซับลิโมนินได้ดีกว่านารินจิน และลดกรดซิตริกได้ในเวลาเดียวกัน โดยไม่เกิดกลิ่นรสแปลกปลอม ไม่สูญเสียวิตามินซี รวมทั้งของแข็งที่ละลายได้ และได้ปรับปรุงรสชาติของน้ำส้มที่ผ่านการใช้ฟลอริซิล (30-60 กรัม/ลิตร) ทำให้มีรสชาติดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.01$) แต่ปัจจุบันกฎหมายไม่อนุญาตให้น้ำส้มที่ผ่านการดูดซับด้วยฟลอริซิลวางจำหน่ายตามท้องตลาด

Kimball (1987) ใช้คาร์บอนไดออกไซด์ ที่ความดันระหว่าง 21 และ 41 MPa และอุณหภูมิ 30-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สามารถลดปริมาณลิโมนินจากน้ำส้มนาเวลวอชิงตัน ได้ร้อยละ 25 แต่ถ้าใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 6 ชั่งโมง จะลดปริมาณลิโมนินได้ร้อยละ 60 และยังไม่ทราบแน่ชัดว่ามีผลต่อรสชาติของน้ำส้มหรือไม่

จากรายงานการใช้ตัวดูดซับสารให้รสขมพบว่ามีข้อสังเกตต่อไปนี้คือ การใช้ตัวดูดซับสามารถลดทั้งปริมาณนารินจิน ลิโมนินและกรดที่มากเกินไปได้พร้อมกันในเวลาเดียวกัน โดยใช้ภาวะการผลิตอุณหภูมิปกติที่อุณหภูมิห้อง โดยไม่ต้องควบคุมอุณหภูมิหรือปรับความเป็นกรด-ด่างเหมือนกับการลดรสขมโดยวิธีอื่น มีการปนเปื้อนของสารเคมีน้อย องค์ประกอบของน้ำส้มไม่ถูกกระทบกระเทือน วิธีการไม่ยุ่งยาก ใช้เวลาน้อย ต้นทุนต่ำ เนื่องจากสามารถนำ

ตัวดูดซับกลับมาใช้ซ้ำได้ และ USFDA อนุญาตให้ใช้เรซินบางชนิดกับอาหารได้ US Food and Drug Administration กำหนดไว้ว่าผลิตภัณฑ์น้ำส้มต้องไม่มีการเติมหรือลดปริมาณวิตามิน เกลือแร่ กรด หรือน้ำตาล รสชาติและสีของน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการลดความขมต้องได้คุณภาพและเป็นที่ยอมรับ ดังนั้นในปัจจุบันทางการค้าจึงยังไม่นิยมลดความขมในน้ำส้ม เพราะเกรงจะกระทบต่อปริมาณองค์ประกอบอื่นๆ ดังนี้วิธีการดูดซับจึงน่าจะเป็นที่พอใจและสอดคล้องกับข้อกำหนดของ USFDA

อย่างไรก็ตามการใช้ตัวดูดซับสังเคราะห์มักจะมีปัญหาในด้านต่างๆ นอกเหนือจากราคาซึ่งค่อนข้างจะสูง ได้แก่ พวก Amberite และ Duolite ต่างๆ ตัวดูดซับธรรมชาติน่าจะได้รับความสนใจที่จะมาทดแทนการใช้งานดังกล่าว เปลือกไข่เป็นตัวอย่างของตัวดูดซับธรรมชาติที่มีลักษณะพิเศษที่สังเกตได้คือมีความเป็นรูพรุน ส่วนรายละเอียดอื่นๆ จะได้กล่าวต่อไป

เปลือกไข่

เปลือกไข่เป็นส่วนประกอบของไข่หมายถึงส่วนที่เป็นธาตุปูน อินทรีย์สาร รวมทั้งวัตถุเคลือบผิวไข่ (cuticle) และน้ำอีกเล็กน้อย ไข่ไก่และไข่เป็ดแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ เปลือก ไข่ขาว และไข่แดง โดยคิดเป็นน้ำหนักได้ 6.1 , 32.9 และ18.7 กรัมของไข่ทั้งฟอง ตามลำดับ ไข่ฟองหนึ่งๆ เฉลี่ยโดยทั่วไปหนัก 58 กรัม เมื่อคิดหักจำนวนของเปลือกและเยื่อติดเปลือกแล้ว ส่วนที่ใช้ประโยชน์ได้มีประมาณร้อยละ 89 ของน้ำหนักทั้งเปลือก หน้าที่ของเปลือกไข่ คือ ช่วยรักษาคุณภาพภายในไข่ไม่ให้เสื่อมเสียได้ง่าย เป็นที่อากาศผ่านเข้าออกได้ และป้องกันน้ำระเหยออกจากไข่ (สุวรรณ เกษตรสุวรรณ, 2529)

ลักษณะที่สำคัญของเปลือกไข่

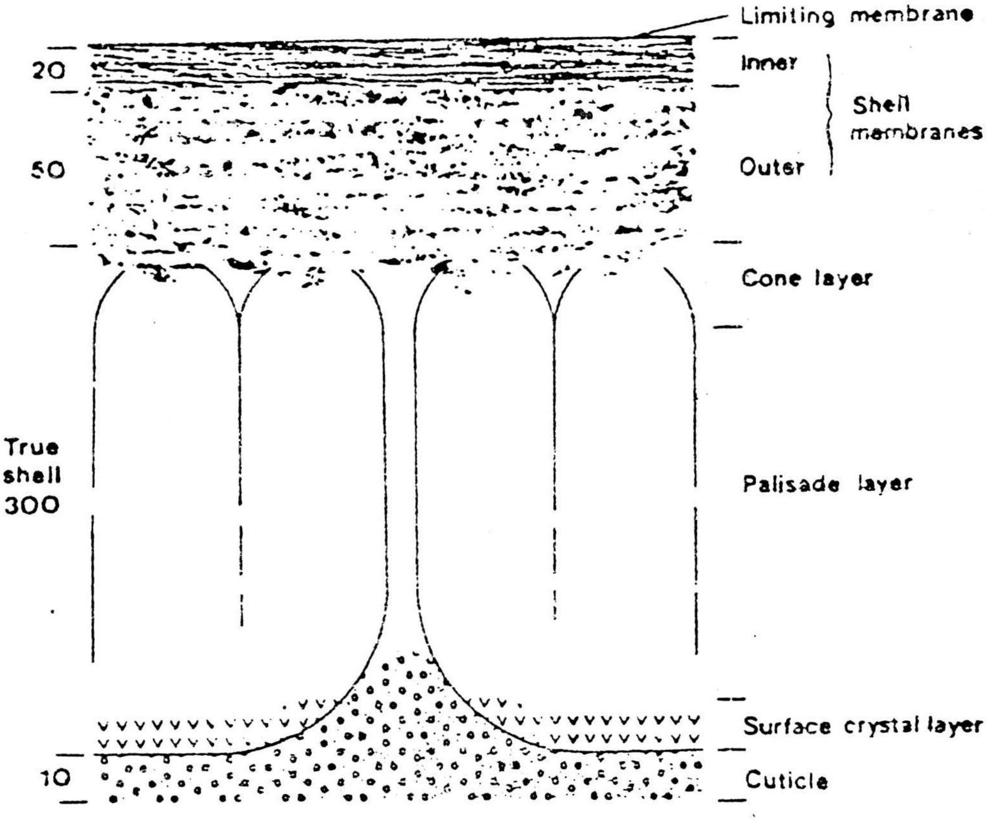
มีประมาณร้อยละ 11 ของน้ำหนักไข่ทั้งฟอง เป็นสารประกอบธาตุปูนคือแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ร้อยละ 94 แคลเซียมฟอสเฟท ($Ca_3(PO_4)_2$) ร้อยละ 1 แมกนีเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 1 และอินทรีย์สารร้อยละ 4 ของน้ำหนักเปลือกแห้ง ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์เปลือกไข่ต่อฟองโดยประมาณมีดังนี้

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยองค์ประกอบของเปลือกไข่ (สุวรรณ เกษตรสุวรรณ, 2529)

	กรัม	ร้อยละ
น้ำ	**0.1**	**1.6**
วัตถุแห้ง :	**6.0**	**98.4**
• อินทรีย์วัตถุ	0.2	3.3
. โปรตีน	0.2	3.3
. ลิปิด	น้อยมาก	0.03
• อนินทรีย์วัตถุ	5.8	95.1
รวม	**6.1**	**100**

โครงสร้างของเปลือกไข่

เปลือกไข่โค้งติดกับเยื่อหุ้มไข่และมีแนวโค้งลดหลั่นกันเป็นแนวรัศมี (radial) จากศูนย์กลางไข่ด้วยการเรียงตัวของผลึกธาตุปูนแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกเป็นโครงสร้างของเปลือกมีประมาณ 1/5 ประกอบด้วยอินทรีย์สาร ทำหน้าที่เชื่อมระหว่างเมทริกซ์อินทรีย์ (organic matrix) ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดเดียวกับพังผืดและกระดูก (collagen-like) ที่ประสานเชื่อมโยงกัน กลุ่มที่สองเป็นส่วนประกอบของอนินทรีย์สารต่าง ๆมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแคลเซียมคาร์บอเนตมีมากที่ด้านนอกเป็นเมทริกซ์ (matrix) ของเปลือก



รูปที่ 1 โครงสร้างภาคตัดขวางของเปลือกไข่ (Tullett, 1987)

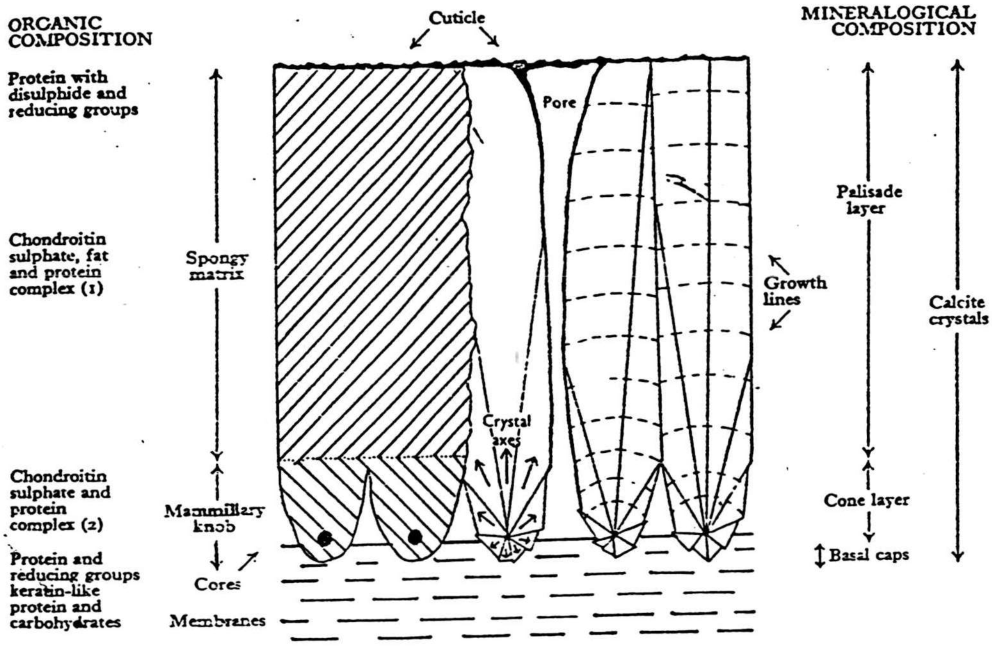
เปลือกไข่ที่เป็น True shell ประกอบด้วยชั้นสำคัญๆ 2 ชั้นคือ เปลือกชั้นนอกกับเปลือกชั้นใน ชั้นนอกเป็นแคลเซียมอยู่ในรูปผลึกของหินปูน (calcite) ตั้งตรงทางแกนยาวของผลึกกับผิวเปลือก เป็นชั้นที่แข็งแรงที่สุด และแน่นที่สุด ส่วนเปลือกชั้นในเป็นสารประกอบของแมกนีเซียม กับฟอสเฟต ไม่อยู่ในรูปผลึก

ตารางที่ 3 องค์ประกอบอินทรีย์ของเปลือกไข่ในส่วนต่างๆ ของเปลือกไข่

1.Shell membrane		
•Protein	Keratin	
	Collagen	
	Elastin	
•Carbohydrate	Hexosamines	Glucosamine, Galactosamine ,Sialic acid
	Neutral sugars	Galactose, Glucose ,Mannose, Fucose
	Aldopentoses	Xylulose
• Fat	Neutral lipids	Mono-,di-,and tri-glyceride , Free fatty acid, Cholesterol , Cholesterol ester
	Phospholipids	Lysolecithin , Lecithin , Cephalin, Sphingomyelin
2.Mammillary cores		Neutral mucopolysaccharide Sialomucins
3.Egg shell matrix		
•Protein		Unspecified but non-collagenous
•Carbohydrate	Hexosamines	Glucosamine , Galactosamine , Sialic acid
	Neutral sugars	Galactose, Glucose ,Mannose ,Fucose Xylose
	Hexuronic acid	Glucuronic acid , Iduronic acid
	Mucopolysaccharides	Hyaluronic acid ,Chondroitin sulphate A, Chondroitin sulphate B
•Fat		Unspecified
•Calcium-binding component		Unspecified except for ovocacin

ตารางที่ 3 (ต่อ) องค์ประกอบอินทรีย์ของเปลือกไข่ในส่วนต่าง ๆของเปลือกไข่

4.Cuticle		
•Protein		Unspecified
•Carbohydrate	Hexosamines	Glucosamine, Galactosamine ,Sialic acid
	Neutral sugars	Galactose, Glucose ,Mannose ,Fucose
	Pentoses	Xylulose , Unspecified pentose
•Fat	Neutral lipids	Mono-,di-,and tri-glyceride,Free fatty acid, Cholesterol , Cholesterol ester
	Phospholipids	Lysolecithin , Lecithin , Cephalin, Sphingomyelin
Porphyrins		



รูปที่ 2 ภาคตัดขวางของเปลือกไข่แสดงสารประกอบอินทรีย์ (ด้านซ้าย) และโครงสร้างผลึก (crystalline structure)(ด้านขวา)

ส่วนต่าง ๆของเปลือกไข่

ส่วนต่างๆ ของเปลือกไข่ มีส่วนประกอบต่างๆ สามารถอธิบายพร้อมกับภาคตัดขวางรูปที่ 2 และ ตารางที่ 3 ได้ดังนี้

1. ส่วนเคลือบผิวไข่ (cuticle) เป็นชั้นบางประกอบด้วยสารอินทรีย์ทรงกลมเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 1 ไมครอน ที่เคลือบอย่างแน่นกับผิวนอกของเปลือกเรียกนวลไข่ หรือคิวติเคิล มีคุณสมบัติให้ก๊าซผ่านเข้าออกได้และอุดรูเปลือกป้องกันจุลินทรีย์ ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 85-87 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 3.5-4.4 ไขมันร้อยละ 2.5-3.5 และเถ้าร้อยละ 3.5 (Wedral, Vadehra and Baker, 1974) ตามตารางที่ 3 จากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบสแกน พบว่าส่วนเคลือบผิวไข่มีรอยแตกร้าว (Tullett, 1987) บริเวณเคลือบผิวไข่ที่ผิวชั้นนอกจะเป็นปุ่มๆ อยู่แถบรูของเปลือก ปุ่มเหล่านี้มีมากในไข่ที่ไม่ใช่เปลือกสีขาว บริเวณเคลือบผิวไข่จะรวมถึงปากรูเปลือกตรงส่วนพื้นเปลือกไข่ด้านใน (plaque of matrix) ซึ่งบริเวณผิวไข่มีรูต่างๆ เหล่านี้ประมาณร้อยละ 1.5 ของผิวพื้นไข่

2. รงควัตถุที่เปลือกไข่ สีที่เปลือกไข่เกิดจาก porphyrin ของเม็ดเลือดแดง การที่เห็นเปลือกไข่มีสีหรือมีจุดบนผิวเพราะบริเวณเคลือบผิวไข่มีรงควัตถุอยู่ปะปนกับเกลือแคลเซียมของเปลือกไข่และส่วนใหญ่จะกระจายบนผิวพื้นเปลือกชั้นนอก ส่วนเปลือกชั้นในมีรงควัตถุน้อย

3. เปลือกชั้นนอกหรือชั้นฟองน้ำ (spongy layer) เปลือกชั้นนี้ฉาบติดกับเปลือกชั้นใน เป็นชั้นที่ผนึกกันแน่น และมีรูเล็กๆ จำนวนมากเชื่อมโยงจากชั้นในมาเปิดที่ชั้นนี้ เป็นรูพรุนแบบฟองน้ำ เปลือกชั้นนอกประกอบด้วยผลึกแคลเซียมอย่างหนาแน่นรวมเข้ากับเมทริกซ์อินทรีย์ (organic matrix) ที่กระจายอยู่ทั่วไปอย่างไม่สม่ำเสมอตลอดทั้งเปลือก ทำให้เปลือกชั้นนอกแบ่งออกเป็น 3 ชั้นตามการกระจายของเมทริกซ์ คือชั้นที่อยู่ข้างในจะมีเมทริกซ์มากประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของเมทริกซ์ ชั้นนอกนั้นมีเมทริกซ์น้อยที่สุด (Cooke and Balch, 1970)

เมทริกซ์อินทรีย์ประกอบด้วยเส้นใยละเอียด (fine fibrils) ของสารอินทรีย์มีความหนา 0.01 ไมครอน และยาว 10 ไมครอน ขนานไปกับผิวเปลือก (Tullett, 1987) เมทริกซ์เป็นพวก protein-acid mucopolysaccharide complex ประกอบด้วยโปรตีนประมาณร้อยละ 70 เป็นพวกไม่ใช่คอลลาเจน (non-collagenous) พอลีแซคคาไรด์ประมาณร้อยละ 11 ซึ่งจะเป็น chondroitin sulphate A และ B ประมาณร้อยละ 35 และกรดยูโรนิก (uronic acid) ในรูปกรดไฮยาลูโรนิก (hyaluronic acid) ประมาณร้อยละ 20 นอกจากนี้ยังมี กาแลคโตซามีน

(galactosamine) กาแลคโตส (galactose) แมนโนส (mannose) ฟิวโคส (fucose) และ sialic acid เป็นต้น การที่เปลือกไข่สามารถจับอิออนได้ เนื่องจากมีสารมิวโคพอลิแซคคาไรด์ (Simkiss and Tyler, 1958) องค์ประกอบของเมทริกซ์ส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นโปรตีนจับกับแคลเซียม โดยโปรตีนจับกับแคลเซียมบริเวณที่เป็นหมู่คาร์บอกซิล เรียกว่า ovocalcin ซึ่งมี γ-carboxyglutamic acid (Tullett, 1987)

4. เปลือกชั้นใน เรียกชั้นมามิลลารี (Mammillary layer) เป็นชั้นบาง มีความหนาประมาณ 0.11 มม. หรือเป็นเนื้อที่ประมาณ 1/3ของความหนาของพื้นผิวไข่ทั้งฟอง มีลักษณะเป็นปุ่มครึ่งทรงกลม ประกอบด้วยผลึกแคลเซียมคาร์บอเนตรูป 6 เหลี่ยม (Kaplan and Siegesmund, 1973) ในแต่ละปุ่มพื้นเปลือก มีสารอินทรีย์จะรวมเข้าไปกับส่วนที่เป็นชั้นฟองน้ำ ซึ่งจะเชื่อมกับเส้นใยของเยื่อเปลือกไข่ด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulphide bond) และพันธะไฮโดรเจน (Simkiss and Tyler, 1958; Baker and Balch, 1962) ขนาดและรูปร่างของปุ่มพื้นเปลือกและการเรียงตัวของพื้นเปลือก จะแตกต่างกันตามชนิดของสัตว์ปีก เส้นผ่านศูนย์กลางของแต่ละปุ่มประมาณ 0.096-0.144 มม. ความสูงของแต่ละปุ่มเหล่านี้แล้วแต่ความหนาของเปลือกชั้นใน (สุวรรณ เกษตรสุวรรณ, 2529)

5. รูเปลือก (Pores) รูเปลือกเชื่อมโยงจากภายนอกเข้าไปถึงเยื่อเปลือกไข่ จำนวนรูที่เปลือกไข่มีตั้งแต่ 7,000-17,000 รู (Simkiss and Tyler, 1958) ไข่เป็ดมีจำนวนรูต่อตารางเซนติเมตรมากกว่าไข่ไก่ ไข่ห่านมีจำนวนรูน้อยกว่าไข่ไก่ แม้ในไข่ต่างพันธุ์กันจะมีจำนวนรูต่างกัน ที่บริเวณส่วนต่างๆ ของเปลือกไข่ จะมีจำนวนรูไม่เท่ากัน ที่ตอนด้านป้านและกลางๆของเปลือกไข่มีจำนวนรูมาก ส่วนด้านแหลมมีจำนวนรูน้อยลง ดังนี้ ด้านป้าน ด้านกลาง และด้านแหลม 125.6 ,106.1 - 113.4 และ73.7 รูต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ (Romanoff and Romanoff, 1949)

รูเปลือกไข่มีรูปร่างตั้งแต่รูปรียาวถึงกลม ส่วนมากเป็นรูปกรวย รูขนาดใหญ่มีขนาด 0.022-0.029 มม . รูเล็กสุดมีขนาด 0.0038-0.0054 มม. รูต่างๆบนเปลือกไข่จะถูกอุดด้วยเส้นใยของโปรตีน เส้นใยโปรตีนเหล่านี้จะกระชับรูและปากรูเป็นรูปทรงอยู่ได้

6. เยื่อเปลือกไข่ (Membranes) ประกอบด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน ร้อยละ 95, 2 และ 3 ตามลำดับ เถ้าประมาณร้อยละ 2 ซึ่งเป็นพวก ฟอสฟอรัส แคลเซียม โปตัสเซียม แมกนีเซียม โซเดียม สังกะสี แมงกานีส เหล็ก ทองแดง โบรอน และอะลูมิเนียม (Wedral et al., 1974)

เยื่อเปลือกไข่เป็นเส้นใยโปรตีน พวกคีราทิน (keratin) ในเยื่อเปลือกไข่ไก่ยังมีโปรตีนพวกคอลลาเจนด้วย นอกจากนี้ยังพบโปรตีนพวกอิลาสทิน (elastin) (Wong et al., 1984) เส้นใยโปรตีนประสานกันจะติดกับเปลือกไข่ แบ่งเป็น 2 ชั้น คือ

6.1. เยื่อชั้นใน (Inner membranes) มีความหนา 2.7 ไมครอน ล้อมรอบไข่ขาวส่วนนอก โดยทั่วไปเยื่อชั้นในและชั้นนอกจะเชื่อมติดกัน ยกเว้นเมื่อไข่อายุมากขึ้นที่ส่วนป้านจะเกิดเป็นช่องอากาศของไข่ (air cell) (สุวรรณ เกษตรสุวรรณ , 2529)

6.2. เยื่อชั้นนอก (Outer membranes) อยู่ระหว่างเยื่อชั้นในกับเปลือก เยื่อชั้นนี้จะติดแน่นกับเปลือกชั้นใน และขนานไปกับเปลือกไข่ เยื่อชั้นนอกนี้แบ่งออกเป็น 3 ชั้น แต่ละชั้นประสานกันด้วยร่างแหของโปรตีน ชั้นนอกสุดเป็นเส้นใยโปรตีนพวกคีราทิน มีลักษณะเป็นเส้นแบนๆ (ribbons) ขนาด 0.002-0.015 มม. เส้นใยชั้นกลางเป็นพวกคีราตินมีลักษณะเป็น 2 ชั้นย่อยที่ติดแนบสนิทจนเกือบเป็นเนื้อเดียวกันและแยกออกจากกันได้ยาก เส้นใยเหล่านี้ประสานกันเป็นร่างแหขนานกับพื้นผิวไข่บ้างตั้งฉากกันบ้าง มีความหนาประมาณ 0.0148 มม.

รายงานวิจัยของ Makkar และ Sharma (1983) ตรึงเอนไซม์แลคเตสบนอนุภาคเปลือกไข่ไก่ขนาด 100 เมช โดยใช้กลูตาราลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมขวาง พบว่าเอนไซม์ตรึงรูปมีแอคติวิตีเหลือเพียงร้อยละ 25 ของแอคติวิตีเริ่มต้น มีค่าอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานเท่ากับ 45 องศาเซลเซียส และ 6.5 ตามลำดับ ส่วนค่าคงที่ไมคิลิสจะสูงกว่าเอนไซม์เดิมเล็กน้อย ในด้านเสถียรภาพการเก็บ พบว่าเอนไซม์ตรึงรูปจะเสียแอคติวิตีไปร้อยละ 40 เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

จากงานวิจัยดังกล่าวได้นำเปลือกไข่มาใช้ตรึงเอนไซม์ซึ่งอาจจะไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร แต่น่าจะนำเปลือกไข่มาใช้ศึกษาด้านอื่นให้มากขึ้น สำหรับงานวิจัยนี้ได้นำเปลือกไข่มาใช้เป็นตัวกลางในการดูดซับสารให้รสขมโดยอาศัยสมบัติของเปลือกไข่ ซึ่งรายละเอียดจะกล่าวในหัวข้อต่อไป