รายงานการวิจัย

ผลของเอทธีลีนต่อการลดสารให้ความขมในเปลือกและน้ำของผลส้มโอ

Effect of Ethylene on the Reduction of Bitter Substances in Peel and Juice of Pummelo Fruit

ชื่อผู้วิจัย ระติพร หาเรือนกิจ

RCH
QK
495
.R98
ร222ผ
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 120221
วัน, เดือน, ปี 10 ก.ค. 2555

b 12338096
i.....

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2552

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการวิจัย : ผลของเอทธีลีนต่อการลดสารให้ความขมในเปลือกและน้ำของผลส้มโอ
Effect of Ethylene on the Reduction of Bitter Substances in Peel and Juice of Pummelo Fruit.
ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจาก เงินงบประมาณแผ่นดิน คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประจำปีงบประมาณ 2552 จำนวน 325,140 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2451 ถึง ตุลาคม 2452
หน่วยงานที่สังกัด : คณะอุตสาหกรรมเกษตร อาคารเจ้าคุณทหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โทรศัพท์: 02-3264112, 02-3264091

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาวิธีการลดความขมของเปลือกและน้ำของผลส้มโอ ซึ่งสาเหตุจากลิโมนินเป็นหลัก โดยใช้เอทธีลีนในปริมาณที่แตกต่างกันสัมผัสผลส้ม 4 แบบ คือ ส้มโอทั้งผล (แบบที่ 1) ส้มโอที่ปอกเปลือกนอก เปลือกชั้นใน เหลือเยื่อเปลือกชั้นในสีชมพูอ่อนบางๆ (แบบที่ 2) ส้มโอปอกเปลือกเหลือเฉพาะ เนื้อกุ้งส้มโอ (แบบที่ 3) และ น้ำส้มโอ (แบบที่ 4) พบว่า เอทธีลีนมีผลต่อการลดปริมาณลิโมนินในเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อกุ้ง และน้ำส้มโออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$).

ในการลดปริมาณลิโมนินในน้ำส้มโอต้องใช้ส้มโอที่ไม่มีเปลือกนอกและเปลือกชั้นในเหลือแต่เนื้อกุ้ง (แบบที่ 3) สามารถลดปริมาณลิโมนินในน้ำได้ 37.50 % โดยใช้เอทธีลีน 50 ppm เป็นเวลา 1.00 ชั่วโมง ซึ่งเป็นสภาวะที่ใช้ปริมาณเอทธีลีนในความเข้มข้นต่ำ ระดับความขมที่ผู้ทดสอบยอมรับได้คือระดับลิโมนิน 14.80 mg/L การใช้เอทธิลีนไม่มีผลต่อสารนอมิลิน ฟลาโวโนนเช่น นาริงจิน อีริโอซิทริน นีโออีริโอซิทริน และองค์ประกอบทางเคมี เช่นปริมาณวิตามินซี ปริมาณกรดซิตริค ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (^{0}Brix) และปริมาณความเป็นกรด–ด่าง

การให้เอทธิลีนสัมผัสกับน้ำส้มโอโดยตรงไม่เกิดผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับลิโมนินในน้ำส้มโอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ASTRACT

This research is the studying of debitterness in peel and juice of pummelo fruit, in which the bitterness is mainly caused by limonin. Ethylene at different concentrations was treating to pummelo from different preparations i.e. whole fruit (type 1), pummelo fruit without flavedo and albedo (type 2), pummelo fruit left with only juice sac membranes (type 3), and pummelo juice (type 4). Ethylene significantly reduced the limonin content in flavedo, albedo, juice sac membranes , and pummelo juice ($p \leq 0.05$).

For the effective limonin reduction, the flavedo, albedo of pummelo fruit must be removed and left with only juice sac membranes (type 3) before treating with ethylene. The optimum treatment where as limonin was reduced 37.50% was 50 ppm ethylene and 1 hr exposing time, which is the low ethylene concentration. The panelists accepted the limonin content in pummelo juice at 14.80 mg/L Treating the pummelo with ethylene had no effect on nomilin, flavanones such as naringin, eriocitrin, neoeriocitrin and chemical composition such as ascorbic acid, titratable acidity, total soluble solid, and pH.

Treating ethylene directly into pummelo juice had no effect on its limonin content.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
สารบัญ.....	III
สารบัญตาราง.....	IV
สารบัญรูป.....	V
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการ.....	2
1.4 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์.....	2
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 แหล่งกำเนิดและชื่อทางวิทยาศาสตร์ของส้มโอ.....	3
2.2 ลักษณะทางกายภาพผลส้มโอ.....	4
2.3 คุณค่าทางอาหารน้ำส้มโอ.....	6
2.4 สารประกอบลิโมนอยด์ (Limonoids).....	7
2.5 สารนาริงจิน (Naringin).....	11
2.6 การลดความขมในผลไม้ตระกูลส้ม.....	12
บทที่ 3 วัตถุดิบ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	18
3.1วัตถุดิบและอุปกรณ์.....	18
3.2 วิธีการทดลอง.....	19
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	22
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและวิจารณ์.....	29
ข้อเสนอแนะ.....	31
เอกสารอ้างอิง.....	32
ภาคผนวก.....	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 สารลิโมนอยด์ต่างๆ และรสชาติ..... 7

2.2 การกระจายของlimoninในส่วนต่างๆของผลไม้ตระกูลส้ม..... 9

2.3 ปริมาณ limonin และ limonoid glucoside ในน้ำส้มโอสด..... 10

2.4 ชนิดผลไม้ตระกูลส้มและปริมาณ naringin (mg/L)..... 12

4.1 ปริมาณ limonin (mg/L) ในเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อกุ้ง และ น้ำส้มโอจากผลส้มโอ..... 22

4.2 ปริมาณ limonin (mg/L) ในเนื้อกุ้งและน้ำส้มโอจากผลส้มโอที่ปอกเปลือกชั้นนอกและเปลือกชั้นใน เหลือเยื่อเปลือกชั้นในสีชมพูอ่อนบางๆ 24

4.3 ปริมาณ limonin (mg/L) เนื้อกุ้ง และ น้ำส้มโอ จากผลส้มโอที่ลอกเยื่อบางๆ หุ้มเนื้อกุ้งส้มโอ..... 26

4.4 ปริมาณ nomilin สารฟลาโวโนน ความสามารถต่อต้านอนุมูลอิสระ และองค์ประกอบทางเคมีในน้ำส้มโอจากผลเนื้อกุ้งส้มโอ 27

4.5 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำส้มโอจากผลส้มโอจากผลเนื้อกุ้งส้มโอ..... 27

4.6 คะแนนผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสระดับปริมาณ limonin ในน้ำส้มโอ..... 28

4.7 ปริมาณ limonin (mg/L) น้ำส้มโอที่สัมผัสกับเอทธิลีนโดยตรง..... 28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ภาพตัดขวางผลไม้ตระกูลส้ม	4
2.2 ภาพประกอบของถุงน้ำ	5
2.3 โครงสร้างของlimonin	8
2.4 เส้นทางการสังเคราะห์limonin	8
2.5 การเปลี่ยนของ Limonoate A-ring lactone เป็น Limonin	9
2.6 โครงสร้าง naringin	11
3.1 ส้มโอพันธุ์ทองดี (แบบที่ 1)	19
3.2 ส้มโอพันธุ์ทองดี (แบบที่ 2)	19
3.3 ส้มโอพันธุ์ทองดี (แบบที่ 3)	19
3.4 น้ำส้มโอพันธุ์ทองดี (แบบที่4)	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและสำคัญของปัญหา

ส้มโอเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญ เนื่องจากสามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทย และมีผลผลิตตลอดทั้งปี ส้มโอที่ปลูกในแต่ละแหล่งมีความแตกต่างในเรื่องของพันธุ์ พันธุ์ที่ตลาดต่างประเทศต้องการ คือ พันธุ์ทองดี และ พันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ซึ่งมีผลผลิตในปี 2543 เป็นจำนวน 86,831 ตัน คิดเป็น 46.89 และ 5.89 % ของผลผลิตรวม ตามลำดับ (Department of agriculture 2002) ส้มโอเป็นผลไม้ตระกูลส้มที่มีข้อดีตรงที่มีกลิ่นและรสชาดเฉพาะตัว มีวิตามินซีเป็นจำนวนมาก สามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด แต่พบว่าผลิตภัณฑ์แปรรูปจากส้มโอมักมีปัญหาในเรื่องรสขม ซึ่งความขมเกิดจาก สารประกอบลิโมนิน (limonin) และ นาริงจิน (naringin) โดยพบว่า limonin มีบทบาทในการให้รสขมมากกว่า naringin และพบมากในส่วนเปลือกชั้นใน โดยอยู่ในรูปลิโมโนเอท เอริง แลคโตน (Limonoate A-ring lactone) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของlimonin ที่ไม่มีรสขม แต่จะเปลี่ยนไปเป็นlimonin เมื่อถูกกระตุ้นด้วยกรด และ/หรือความร้อนและเอนไซม์ลิโมโนเอท ดี-ริง แลคโตน ไฮโดรเลส (limonoate D-lactone hydrolase) มีรายงานว่า limonin 6 ส่วนในล้านส่วน (ppm) จะให้รสขมที่ผู้บริโภครู้สึกได้ ส่วนnaringinจะต้องมีปริมาณ 600 ส่วนในล้านส่วน (ppm) (Guadagni *et al.*,1973; Kimball and Norman, 1990) ดังนั้นการกำจัดความขมจึงเป็นความจำเป็นในการแปรรูปผลิตภัณฑ์ส้มโอ วิธีการที่ใช้ในการลดความขมในน้ำผลไม้ตระกูลส้มมีหลายวิธี เช่น การใช้สารเคมี การใช้เอนไซม์-จุลินทรีย์ และการใช้ตัวดูดซับชนิดต่างๆ วิธีเหล่านี้แม้จะสามารถลดความขมลงได้แต่บางวิธียุ่งยาก ค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ทางผู้วิจัยจึงได้หาวิธีการที่ปฏิบัติได้ง่ายและรวดเร็วสะดวก คือการใช้เอทธิลีนในการลดปริมาณความขมในผลส้มโอเบื้องต้นให้น้อยลงโดยมุ่งไปส่วนที่เป็นน้ำส้มโอเพราะความสำเร็จของโครงการนี้จะเกิดประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมน้ำผลไม้เป็นอย่างยิ่ง

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอทธิลีนเพื่อลดความขมในส่วนของส้มโอ ได้แก่ เปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน และน้ำส้มโอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการ และหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้

1) ผลที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการในเชิงวิชาการ คือ ได้ทราบถึงวิธีปฏิบัติที่เหมาะสมในการลดความขมของผลส้มโอโดยใช้เอทธีลีน

2) ผลที่คาดว่าจะได้รับจากโครงการในเชิงพาณิชย์และสังคม คือ ได้ข้อมูลพื้นฐานในการวิจัยพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มโอเพื่อนำไปสู่การผลิตในเชิงพาณิชย์ต่อไป และ เกษตรกรสามารถนำเทคโนโลยีที่ได้รับไปแปรรูปผลผลิตในท้องถิ่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสามารถพึ่งตนเองได้อย่างยั่งยืน

1.4 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1) เกษตรกรที่เพาะปลูกส้มโอเป็นทางการค้า

2) โรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปน้ำผลไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แหล่งกำเนิดและชื่อทางวิทยาศาสตร์ของส้มโอ

ส้มโอ (Pummelo) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า [*Citrus grandis (L.)* Osbeck]วงศ์ Rutaceae ชื่อสามัญ Pomelo (Pummelos), Shaddock ชื่อพื้นเมืองไทยว่า ส้มโอ

Kingdom: Plantae

Division: Mognoliophyta

Class: Magnoliopsida

Subclass: Rosidae

Order: Sanpindales

Family: Rutaceae

Genus : Citrus

Species : C. grandis (L.) Osbeck; C. maxima Merril (Wikipedia, 2009)

ส้มโอมีถิ่นกำเนิดในเกาะมลายูและหมู่เกาะโปลีนีเซีย ปัจจุบันแหล่งปลูกส้มโอที่สำคัญ คือ จีนตอนใต้ เวียดนาม มาเลเซีย ไต้หวัน ญี่ปุ่น ไทย อิสราเอล สำหรับประเทศไทยแหล่งปลูกส้มโอที่สำคัญ จังหวัดชุมพร นครศรีธรรมราช เชียงใหม่ เชียงราย และนครปฐม และมีหลายพันธุ์ ซึ่งแต่ละพันธุ์จะมีรสชาติและลักษณะแตกต่างกัน เช่น พันธุ์ทองดี ขาวน้ำผึ้ง ขาวหอม ขาวใหญ่ ขาวแตงกวา ขาวพวง ขาวแป้น ท่าข่อย และ หอมหาดใหญ่ ตามลำดับ (Department of agriculture 2002) ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ใช้ส้มโอพันธุ์ทองดีเป็นวัตถุดิบซึ่งปลูกมากและสินค้าสำคัญของจังหวัดในภาคกลางเช่น จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร และราชบุรี

ส้มโอพันธุ์ทองดี เริ่มให้ผลผลิตเมื่ออายุ 4 ปีหลังปลูก ออกดอกเดือนมกราคม เก็บผลผลิตเดือนสิงหาคม-กันยายน ของทุกปี ถ้าเป็นทวายจะออกดอกเดือนมิถุนายนและเก็บผลผลิตเดือนมีนาคม-เมษายน คุณสมบัติและลักษณะเฉพาะคือผลกลมแป้น หัวมีจีบเล็กน้อยขนาด ปานกลาง เส้นผ่าศูนย์กลางผลประมาณ14-16 เซนติเมตร เยื่อหุ้มกลีบสีชมพูเรื่อๆ เนื้อกุ้งฉ่ำสีชมพูอ่อน รสหวานจัดมีการบริโภคทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

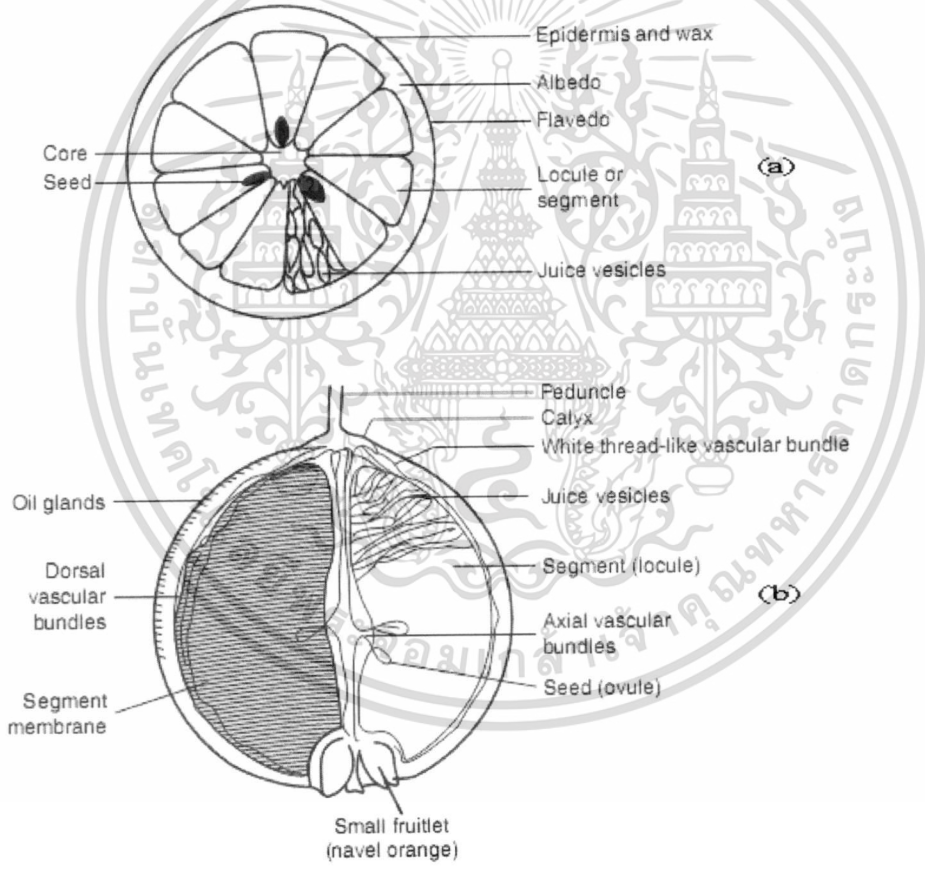
2.2 ลักษณะทางกายภาพผลส้มโอ

ส้มโอจะมีส่วนประกอบคล้ายส้มทั่วไป ประกอบด้วย 3 ส่วนที่สำคัญคือ (Ting and Rouseff, 1986)

1) เปลือกชั้นนอก (Flavedo) เป็นส่วนของเปลือกที่มีสีเขียว ประกอบด้วยเซลล์สารคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ และมีน้ำมันหอมระเหยในบริเวณส่วนนอกของชั้น Epicarp

2) เปลือกชั้นใน (Albedo) มีสีขาวประกอบด้วย spongy tissue ของเซลล์ parenchyma ขนาดใหญ่ ซึ่งส่วนใหญ่จะประกอบด้วยเพคตินและเฮมิเซลลูโลส

3) กลีบผล (Segment) เป็นส่วนที่รับประทานได้ มีลักษณะเป็นกลีบซึ่งปกติมีอยู่ประมาณ 9-13 กลีบต่อผล ภายในกลีบประกอบด้วยเนื้อเยื่อหรือถุงบรรจุน้ำ ซึ่งเรียกกันทั่วไปว่าเนื้อกุ้ง (juice sacs) เป็นจำนวนมาก (รูปที่ 2.1)



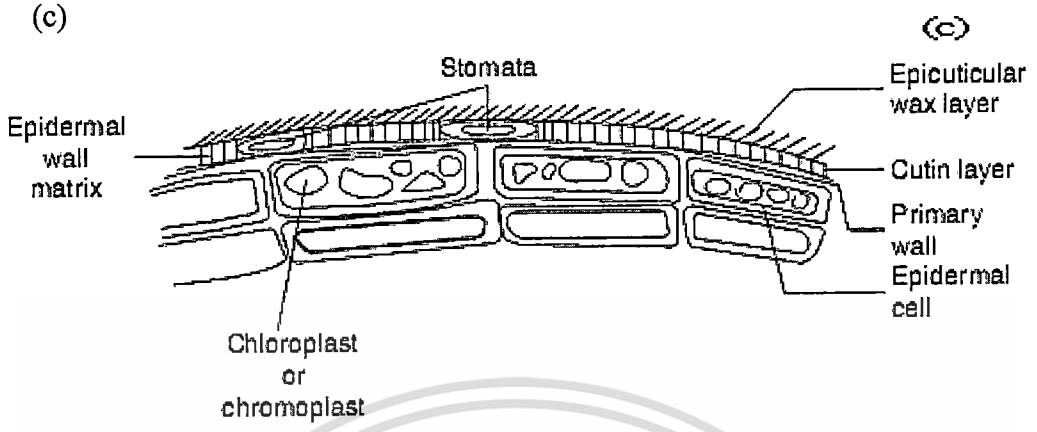
รูป 2.1 ภาพตัดขวางผลไม้ตระกูลส้ม

(a) Transverse Section of Citrus Fruit Showing Various Anatomical Parts of Citrus Fruits

(b) Longitudinal Section Showing Vascular Bundles and Fruitlets of Navel Fruit

ที่มา : Ladaniya (2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

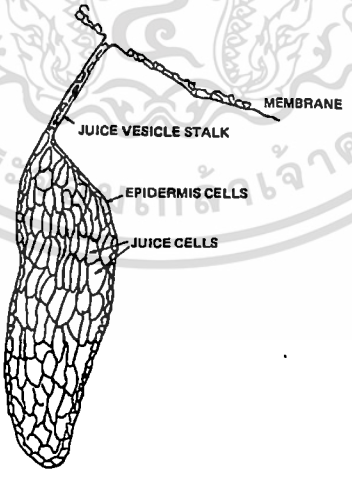


รูป 2.1 ภาพตัดขวางผลไม้ตระกูลส้ม (ต่อ)

(c) Schematic Diagram of Epidermal Layer, Cutin, and Wax on Rind of Citrus Peel

ที่มา : Ladaniya (2009)

กุ้งหรือถุงน้ำ (Juice sac หรือ juice vesicle) ของผลไม้ตระกูลส้มมีลักษณะเป็นถุงน้ำเชื่อมติดกับผนังกลีบส้มโดยท่อลำเลียงน้ำและอาหาร (รูปที่ 2.2)



รูปที่ 2.2 ภาพประกอบของถุงน้ำ (juice vesicle)

ที่มา : Ting and Rouseff (1986)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 คุณค่าทางอาหารของน้ำส้มโอ

น้ำส้มโอเป็นของเหลวภายในกุ้งมีองค์ประกอบที่สำคัญได้แก่

1) น้ำตาล เป็นคาร์โบไฮเดรตที่พบมากที่สุดในน้ำส้มโอได้แก่ น้ำตาลซูโครส ฟรุตโตส และกลูโคส ปริมาณคาร์โบไฮเดรตประมาณ 17.8 กรัม/100 กรัมของส่วนที่บริโภคได้ (Geocities, 2009) โดยจะมีปริมาณแตกต่างกันขึ้นกับพันธุ์ ความแก่ ภูมิอากาศ การเพาะปลูก และตำแหน่งของผลที่อยู่บนต้น ในส้มโอพันธุ์เดียวกันความแก่เป็นปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลมากที่สุด โดยส่วนมากเมื่อผลแก่จะมีปริมาณน้ำตาลมากกว่าผลที่ยังอ่อนอยู่

2) กรดอินทรีย์ ส่วนใหญ่จะเป็นTotal titrable acidity รองลงมาจะเป็นกรดมาลิค และกรดอื่นๆ เมื่อผลแก่จะมีปริมาณกรดลดลงสัมพันธุ์กับปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น ปริมาณกรดอินทรีย์เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคโดยอัตราส่วนระหว่างน้ำตาลกับปริมาณกรด (brix/acid ratio) เป็นเป็นดัชนีชีวัดคุณภาพน้ำผลไม้ดังนั้นอัตราส่วนโดยทั่วไปที่ยอมรับได้คือ 15-18 (Kimball, 1999) ในขณะที่น้ำส้มโอไทยมี อัตราส่วนน้ำตาลกับปริมาณกรดประมาณ 19.68-26.08 (กาญจนารัตน์ และคณะ, 2547)

3) เพกติน ปริมาณเพกตินมีผลต่อเนื้อสัมผัสของผลส้มโอ โดยเมื่อเพกตินอยู่ในรูปของ Calcium pectate ซึ่งไม่ละลายน้ำ มีผลทำให้เนื้อเยื่อมีเนื้อสัมผัสที่แข็ง เมื่อผลแก่ภายหลังเก็บเกี่ยวเอนไซม์ pectinmethylesterase (PME) และ Polygalacturonase (PG) สามารถย่อยสลายเพคตินให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำมากขึ้น มีผลทำให้เนื้อเยื่อมีเนื้อสัมผัสนิ่มลง
(Ting and Rouseff, 1986)

4) วิตามิน วิตามินซีเป็นวิตามินที่มีมากที่สุด ปริมาณascorbic acidในน้ำมีอยู่ประมาณ 58 มก. /100 มล. ปริมาณ Ascorbic acid ลดลงเมื่อผลเจริญเติบโตจนถึงระยะแก่ (Stewart, 1980) วิตามินอื่นๆได้แก่ Vitamin A มีประมาณ 10 I.U. Thiamine มี ประมาณ 0.02 mg Riboflavin ประมาณ 0.01 mg และ Niacin มีประมาณ 0.3 mg (Geocities, 2009)

5) แร่ธาตุ ในน้ำส้มโอได้แก่potassium (110.53-164.56 mg/100mg) calcium (6.55-9.32 mg/100mg) sodium (3.46-3.91 mg/100mg) Ferric (0.03-0.26 mg/100mg) และ Cupper (0.03-0.11 mg/100mg) (กาญจนารัตน์ และคณะ, 2547)

6) สารให้กลิ่น เป็นน้ำมันหอมระเหยและสารให้กลิ่นที่มีคุณสมบัติละลายได้ในน้ำ เช่น แอลกอฮอล์ อัลดีไฮด์ กรดคีโตนและเอสเทอร์ (Kimball, 1999)

7) สารให้ความขม

สารให้รสขมตามธรรมชาติ เป็นสารประกอบ 2 ชนิด คือ สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid) และ สารประกอบลิโมนอยด์ (limonoid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 สารประกอบลิโมนอยด์ (Limonoids)

สารลิโมนอยด์ที่พบมากที่สุดในส้ม คือ limonin ซึ่งสารตัวนี้เป็นสารที่ทำให้เกิดรสขมในน้ำผลไม้ตระกูลส้มเช่น Grapefruit, Navel orange และ lime limonin เป็นสารจำพวกเททระนอร์ไตร เทอร์ปีนอยด์ (Tetranortriterpenoid) ที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม (Chloroform) อะซิโตไนไทร์ล (Acetonitrile) และไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) (Maier *et al.*, 1977) (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 สารลิโมนอยด์ต่างๆ และรสขม

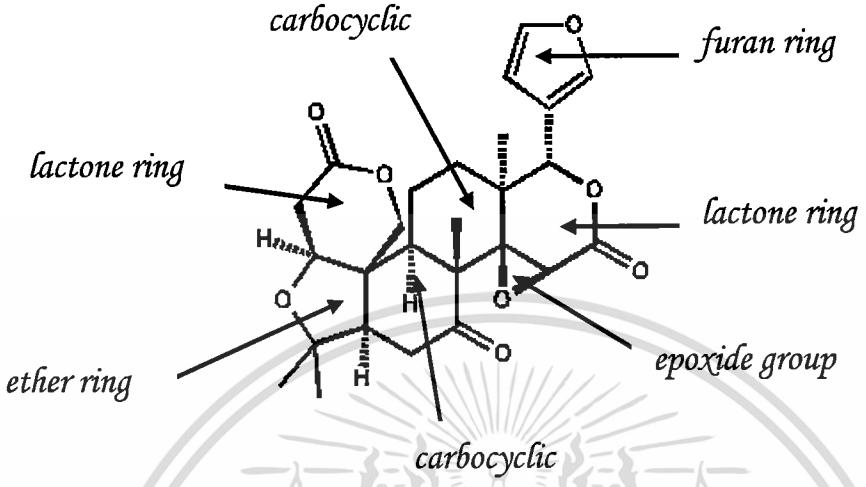
สารลิโมนอยด์	รสขม
ลิโมนิน	ขม
ดีออกซีลิโมนิน	ไม่ขม
โอบาคิวโนน	ไม่ขม
นอมิลิน	ขม
ลิโมนิน แอซิด	ไม่ขม
ลิโมนินแอซิดวงแหวนแลกโตนเอ	ไม่ขม
ดีออกซิทิลนอมิลิน	ไม่ขม
ไอซานจิน	ขม
นอมิลิลนิก แอซิด	ขม
17 – ดีไฮโดรลิโมโนอิก แอซิด วงแหวนแลกโตนเอ	ไม่ขม
ลิโมเนอิก แอซิด	ไม่ขม
ดีออกซีลิโมนิก แอซิด	ไม่ขม
โอบาคิวโนอิก	ขม
โปรโตลิโมนิน 1	ขมเล็กน้อย
โปรโตลิโมนิน 2	ไม่ขม
ลิโมนิลิค แอซิก	ไม่ขม
ลิโมนอล	ไม่ขม

ที่มา : Maier *et al.* (1977)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างของ limonin

Limonin มีสูตรโครงสร้าง คือ $C_{26}H_{30}O_8$ มวลโมเลกุล 470 จุดหลอมเหลว 298°C

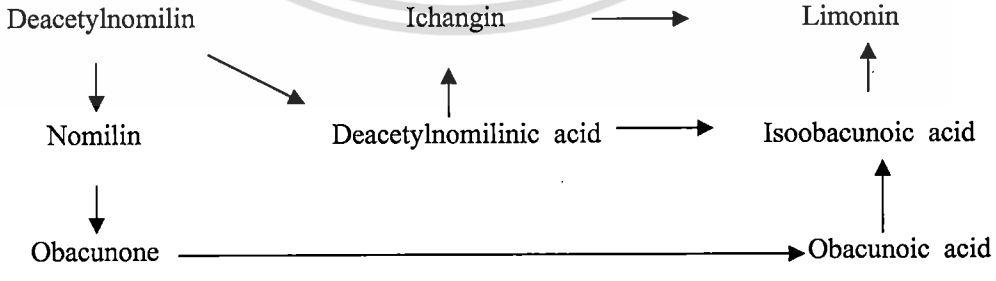


รูปที่ 2.3 โครงสร้างของlimonin

ที่มา : Maier *et al.* (1977)

การสังเคราะห์ limonin

Maier *et al.* (1977) ได้กล่าวว่าสาร limonin ถูกสังเคราะห์ที่บริเวณใบ โดยเริ่มจากสารตั้งต้น ลิโมโนเอท เอ-ริง แลคโตน (Limonoate A-ring lactone) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่ไม่ขม แล้วถูกเคลื่อนย้ายไปสู่เปลือกชั้นใน (albedo) และผนังกลีบส้ม (segment walls) สุดท้ายเคลื่อนย้ายไปยังเมล็ด Maier *et al.* (1977) ได้เสนอวิถีทางการเกิด limoninในผลไม้ตระกูลส้มสามารถสรุปเส้นทางการสังเคราะห์limoninไว้ในรูปที่ 2.4

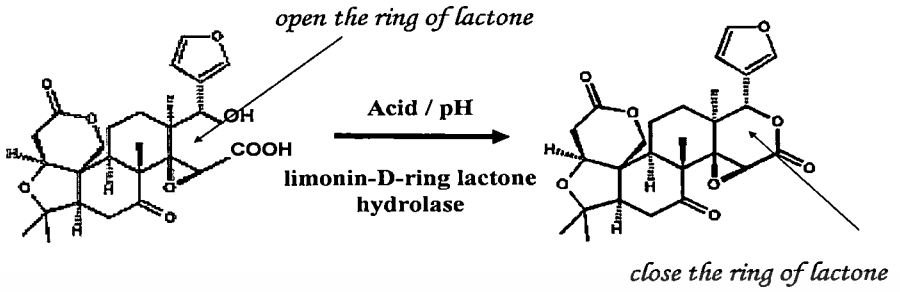


รูปที่ 2.4 เส้นทางการสังเคราะห์limonin

ที่มา : Maier *et al.* (1977)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยน Limonin A ring lactone เป็น Limonin



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

Limonin
(a bitter from)

รูปที่ 2.5 การเปลี่ยนของ Limonoate A-ring lactone เป็น Limonin

ที่มา: Maier *et al.* (1980)

การกระจายตัวของ limonin

Cecilia and Richard (1983) ได้ศึกษาการกระจายตัวของ limonin ในเกรฟฟรุตสายพันธุ์ต่างๆพบว่า limonin มีมากในเมล็ดและเปลือกหุ้มเมล็ด รองลงมา เยื่อหุ้มกลีบ (segment membrane) อัลบีโด (albedo) ฟลาวีโด (flavedo) และในกุ้ง (juice vesicle) ตามลำดับ และพันธุ์ของผลไม้ตระกูลส้มชนิดเดียวกันมีผลต่อปริมาณ limonin (McIntosh and Rouseff, 1982; Kasemsuksakul 1989 : Matthew *et al.*, 1990) and Jungsakulruijirek, 1997) (ตารางที่ 2.2)

ตารางที่ 2.2 การกระจายของ limonin ในส่วนต่างๆของผลไม้ตระกูลส้ม

Citrus fruit	**กระจายของlimoninในส่วนต่างๆ**	**ที่มา**
Grapefruit	cotyledon>inner seed coat>outer seed coat> central pith>segment membran>albedo> flavedo> juice	McIntosh and Rouseff (1982)
Thai tangerine	seeds > segment membranes > albedo >flavedo > juices sacs	Kasemsuksakul (1989)
Citrus fruit	Seed coat>segment membraes>albedo>flavedo> Juice	Matthew *et al.* (1990)
Thai tangerine	seeds > albedo >flavedo > segment membranes > juices sacs	Jungsakulruijirek (1997)
Lime	seeds > segment membranes > albedo >flavedo > juices sacs	สุวรรณา และ ระติพร (2544)
Pummelo	seeds > albedo >flavedo > segment membranes > juices sacs	Pichaiyongvongdee and Ratiporn (2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pichaiyongvongdee and Ratiporn (2009)ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณlimoninในส้มโอพันธุ์ทองดีพบว่าเมล็ดมีปริมาณlimonin (2,594.60 mg/L) มากที่สุด รองลงมาคือ เปลือกชั้นใน (313.58 mg/L) เปลือกชั้นนอก (217.72 mg/L) และ เนื้อเยื่อกลีบ (122.69 mg/L) ส่วนน้ำมีปริมาณlimonin น้อยที่สุด (29.62 mg/L) Ohta and Hasegawa (1995) พบว่าในน้ำส้มโอมีปริมาณlimonin โดยเฉลี่ย 17.9 mg/L ยกเว้นส้มโอพันธุ์นครชัยศรีที่มีปริมาณ limonin 4 mg/L (ตารางที่ 2.3)

ตารางที่ 2.3 ปริมาณ limonin และ limonoid glucoside ในน้ำส้มโอสด

Cultivar	pH	Limonin (ppm)	Total Limonoid Glucosides (ppm)
African	3.70	32.5	63
Arajon	3.45	14.0	30
Deep Red	3.69	25.0	23
Kao Phuang	3.61	13.5	17
Kao Ruan Tia	3.40	10.0	45
Nakon Chaisi	3.55	4.0	10
Philippine	3.95	17.5	7
Pin Shan kong Yau	3.53	14.5	13
Pink	3.27	20.0	70
Red	3.31	15.0	40
Red Fleshed	3.09	14.5	23
Reinking	3.70	15.0	71
Siamese	6.04	35.0	7
Siamese Acidless	5.94	25.0	7
Sweet	3.40	17.5	20
Tahitian	3.77	14.0	13

ที่มา : Ohta and Hasegawa (1995)

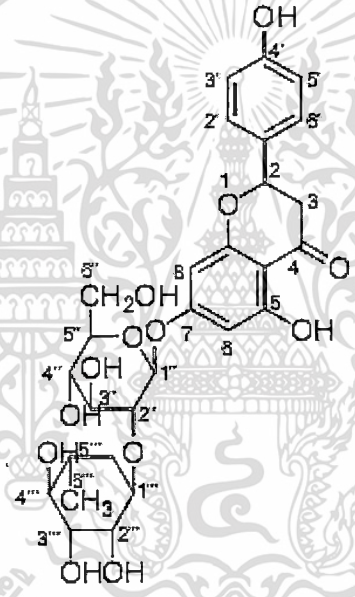
กาญจนารัตน์ และคณะ (2547) ได้ทำการศึกษาปริมาณlimoninในส้มโอพันธุ์ต่าง ๆ 8 พันธุ์ ได้แก ขาวใหญ่ ขาวน้ำผึ้ง ขาวแตงกวา ขาวหอม ขาวแป้น ทองดี ท่าข่อย และ พื้นเมืองเชียงใหม่ พบว่ามีปริมาณ limonin อยู่ระหว่าง 6.82-32.40 ppm ในขณะที่ ส้มโอพันธุ์ทองดี ขาวน้ำผึ้ง และขาวแป้น มีปริมาณlimonin 27.94 23.84 และ 19.17 ppm จากการศึกษา Pichaiyongvongdee and and Ratiporn (2009) ในส้มโอพันธุ์ต่าง ๆ 7 พันธุ์ ได้แก่ ทองดี ท่าข่อย ขาวน้ำผึ้ง พันธุ์ขาวใหญ่ ปัตตาวี ขาวแป้น และขาวแตงกวา พบว่าทั้ง 7 พันธุ์มีปริมาณ limonin 21.09 ppm ดังนั้นน้ำส้มโอและผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแปรรูปจึงมักมีปัญหาในเรื่องความขมเนื่องจาก limonin ผู้บริโภคสามารถรับรสขมมีในน้ำส้มมีมากกว่า 6 ppm (McIntosh et al., 1982; Ohta and Hasegawa, 1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 สารนาริงจิน (Naringin)

โครงสร้างของ Naringin

Naringin เป็นสารให้ความขมอีกตัวหนึ่งคือที่ถูกค้นพบครั้งแรกในปี คศ. 1857 โดย De Vry โดยพบในเนื้อเยื่อทุกส่วนของผลไม้ มีสูตรเคมี $C_{27}H_{32}O_{14}.2H_20$ (4′,5,7-trihydroxyflavanone-7-β-L-rhamnoglucoside-(1,2)-α-D-glucopyra-noside) น้ำหนักโมเลกุล 580.53 จุดหลอมเหลว 166 °C เป็นสารบริสุทธิ์มีลักษณะเป็นผงสีเหลือง ละลายได้ในอะซิโตนแอลกอฮอล์ และน้ำร้อน (Horowitz and Gentili (1977) โครงสร้างnaringinประกอบด้วย flavanone form และ neohesperidoside forms (รูปที่ 2.6)



รูปที่ 2.6 โครงสร้าง naringin

ที่มา: Horowitz and Gentili (1977)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

naringin ที่เป็นสาเหตุให้เกิดรสขมในน้ำส้มโอ ส่วน hesperidin แม้ว่าจะมีปริมาณรองลงมาจาก naringin แต่เป็นสารที่ไม่มีรสขม (ตารางที่ 2.4) (Peterson *et al.*, 2006 (a) and (b) ; Xu *et al*, 2008)

ปริมาณ naringinในน้ำผลไม้ตระกูลส้มไม่มีค่ามาตรฐาน USDA (The U.S. Department of Agriculture) แต่มีรายงานความขมของnaringinเป็นคะแนนของกลิ่นรสชาติ กฎหมายของฟลอริด้า (Florids Department of Citrus 1975) มีข้อกำหนดในน้ำเกรฟฟรุตเกรดเอต้องมีปริมาณ naringin ต่ำกว่า 600 ส่วนในล้านส่วน (ppm) ขณะที่เกรดบีต้องมีปริมาณ naringinต่ำกว่า 750 ส่วนในล้านส่วน (ppm) (Kimball, 1999)

ตารางที่ 2.4 ชนิดผลไม้ตระกูลส้มและปริมาณ naringin (mg/L)

Citrus fruit		Hesperidin	Naringin	ที่มา
Pummelo	Hiyou	42.17	108.52	Xu *et.al.* (2008)
	Sijiyou	21.81	125.79	Xu *et.al.* (2008)
Greapefruit	Huyou	38.26	348.53	Xu *et.al.* (2008)
Grapefruit		2.78	16.60	Peterson *et.al.* (2006 b)
Grapefruit	White	3.98	16.90	Peterson *et.al.* (2006 b)
	Red or Pink	0.27	13.87	Peterson *et.al.* (2006 b)
Sweet orange		15.25	0.17	Peterson *et.al.* (2006 a)
Sour orange		0.00	18.83	Peterson *et.al.* (2006 a)
Grapefruit juice NFC (not from concentrate)		-	30.4	Vanamala *et al.* 2006
Lemon		15.78	0.18	Peterson *et.al.* (2006 a)
Lemon		3.43	89.8	Wang *et.al.* (2007)
Lime		15.64	0.00	Peterson *et.al.* (2006 a)
Tangerine		19.26	0.00	Peterson *et.al.* (2006 a)
Tangor		15.42	0.00	Peterson *et.al.* (2006 a)
Tangelo		4.21	5.60	Peterson *et.al.* (2006 a)

2.6 การลดความขมในผลไม้ตระกูลส้ม

ความขมเป็นสิ่งที่สำคัญในด้านการยอมรับทางการตลาดของอุตสาหกรรมผลิตน้ำผลไม้ตระกูลส้ม ดังนั้นนักวิจัยจึงให้ความสนใจและหาวิธีแก้ไขปัญหาเกี่ยวกับสารให้ความขมตั้งแต่ปี 1968 จนถึงปัจจุบัน ได้แก่

2.6.1) การใช้สารดูดซับ (Adsorbent)

การใช้ตัวดูดซับในการกำจัดรสขม หลักการคือใช้ตัวดูดซับดูดจับสารให้รสขมในน้ำผลไม้ไว้ทำให้รสขมลดน้อยลงหรือหมดไป การใช้ตัวดูดซับชนิดต่างๆ ในการกำจัดรสขมให้ผลและมีประสิทธิภาพต่าง ๆ กัน เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) โพลีอะไมด์ (Polyamide)

โพลีอะไมด์สามารกำจัด limonin และ naringin ในน้ำส้มแต่โพลีอะไมด์มีความจำเพาะในการดูดจับ naringinได้ดีกว่า limonin เนื่องจากฟาวาโนน (Flavonone) ส่วนใหญ่ประกอบด้วยกลุ่มพีนอลิค (Phenolic) เกิดจากแรงดึงดูดกับโพลีอะไมด์ด้วยพันธะไฮโดรเจนได้ง่าย (Chandler *et al.*, 1968) ดังนั้นในน้ำส้มที่มีทั้งnaringinและlimoninอยู่ naringinจะถูกดูดจับก่อนเป็นอันดับแรกทำให้เหลือความสามารถในการดูดจับ limonin น้อย ถ้าต้องการให้ประสิทธิภาพในการลดความขมมีมากขึ้นโดยเติมโพลีอะไมด์ลงในน้ำส้ม กวนเป็นเวลา 15 นาที แล้ว Centrifuge เอาตัวดูดซับออก ทำซ้ำด้วยโพลีอะไมด์ 2 ครั้ง วิธีนี้มีข้อเสียคือascorbic acidจะสูญเสียไป 30 %

2) เซลลูโลส อะซิเตท (Cellulose acetate)

ในปี 1977 Chandler and Johnson ได้ทดลองใช้ cellulose acetate กำจัด limoninและnaringinในน้ำผลไม้ตระกูลส้มใช้ในรูป flake หรือ powder ถ้าในรูป powder จะใช้ 10 กรัมต่อน้ำผลไม้ 1 ลิตร จะสามารถกำจัดlimoninได้ 44-70 % ใช้เวลาน้อยกว่า 1 ชั่วโมง ถ้าเซลลูโลสอะซิเตทในรูป flake กรรมวิธีเหมือนกับ powder โดยการเติมเซลลูโลสอะซิเตทลงไปแล้วกวนให้สัมผัสกับน้ำผลไม้ วิธีนี้ascorbic acidจะถูกลดลงเพียงเล็กน้อย ต่อมา Chandler (1979) ได้ใช้ cellulose ester ในรูป gel โดยไม่ต้องมีการ centrifugation น้ำผลไม้ก่อน โดยนำน้ำผลไม้ใส่ลงในถัง containers มีเครื่องกวนและบรรจุ gel ที่เป็นลูกบาศก์หรือทรงกลม หรือนำ gel ไปบรรจุในคอลัมน์แล้วผ่านน้ำผลไม้ลงในคอลัมน์ ซึ่งสารตัวนี้สามารถนำกลับมาใช้ได้ใหม่โดยล้างน้ำธรรมดา 2 ครั้ง

3) เบต้าไซโคเด็กทรินโพลิเมอร์ (β – Cyclodextrin polymer)

Shaw *et.al.* (1984) ใช้ β-Cyclodextrin polymer 1 กรัมต่อน้ำผลไม้ 50 มิลลิลิตรในการขจัดความขมพบว่าสามารถลดlimonin โนมิลิน และนารินจินใน grapefruit juice และlimonin 50 % Polymerชนิดนี้สามารถนำกลับมาใช้ได้อีกด้วยสารละลายด่างเจือจาง หรือเอทธานอล วิธีนี้มีข้อดี คือ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงascorbic acid ต่อมา Wagner *et al*, (1988) ใช้ β-Cyclodextrin polymer ใน Fluidised bed column ใช้ทำให้การลดความขมของน้ำผลไม้ในระดับอุตสาหกรรมมีความเป็นไปได้สูง

4) Amberlite

เป็นชื่อทางการค้าของ Resin ที่ผลิตโดยบริษัท Pohm and haas มีลักษณะทางกายภาพ คือ ทนต่อความร้อน และไม่ละลายเมื่ออยู่ในตัวทำลายหรือในน้ำ Amberlite มีหลายชนิด เช่น Amberlite XAD-2 เป็น non-polystyrene resin มีคุณสมบัติในการดูดจับlimoninและnaringinได้สูงกว่า 50 % และสามารถดูดซับกรดได้เล็กน้อย Ambertile XAD-2 ไม่มีผลต่อascorbic acid ของน้ำผลไม้ แต่มีผลต่อกลิ่นเล็กน้อย Amberlite XAD-7 เป็น Resin กลุ่มpolyacrylic ซึ่งเป็นสารที่มีขั้ว เช่นเดียวกับ Cellulose acetate มีคุณสมบัติในการดูดจับlimoninและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

naringinสูงกว่า 80 % Amberlite XAD – 7 ไม่มีผลต่อascorbic acidของน้ำผลไม้ แต่ทำให้กลิ่นของน้ำผลไม้ลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ส่วนAmberlite XAD-12 สามารถดูดซับกรดได้ดี สามารถดูดซับของแข็งที่ละลายอยู่ในน้ำผลไม้สูงถึง 7 % ลักษณะกลิ่นของน้ำผลไม้หายไป การดูดซับlimoninและนาริงจิ้นได้ต่ำกว่า Amberlite XAD– 2 และ Amberlite XAD-7

นอกจากนี้ยังมีตัวดูดซับชนิดต่าง ๆ นอกเหนือจากที่กล่าวมาแล้วข้างต้นซึ่งมีประสิทธิภาพและความจำเพาะในการดูดซับ limonin naringin และ ascorbic acid ที่แตกต่างกัน เป็นผลมาจากความแตกต่างในด้านพื้นที่ผิว (surface) และปริมาณรู (pore) ของตัวดูดซับ Johnson and Chandler (1988) ได้สรุปการเลือกใช้ตัวดูดซับดังนี้ เช่น เซลลูโลสอะซิเตทจะมีความสามารถในการดูดซับlimonin Amberlite XAD -7 และ XAS -2 จะมีความสามารถในการดูดซับlimoninและnaringin Amberlite TRA -93 และ Amberlite TRA -45 จะมีความสามารถในการดูดซับlimonin และ ascorbic acid Deacidite -G จะมีความสามารถในการดูดซับทั้งlimonin naringin และ ascorbic acid

2.6.2) การใช้เปลือกไข่

ณัฏฐา และคณะ (2540 ก และ ข) ได้ศึกษาการลดปริมาณlimoninในน้ำส้มเขียวหวานโดยใช้เปลือกไข่พบว่า ภาวะที่สามารถลดปริมาณlimoninในถังกวนได้มากที่สุดคือ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียล pH 3-5 เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง เปลือกไข่ขนาด 60-80 เมช ปริมาณเปลือกไข่ 15 กรัมต่อน้ำส้ม 100 มิลลิลิตร ที่ภาวะดังกล่าวนี้ สามารถลดปริมาณlimoninจาก 11.39 ppm เป็น 7.8 ppm คิดเป็นการลดลง 31.5 %โดยน้ำหนัก

วิธีนี้จะทำให้สูญเสียascorbic acidเพียง 17.3 % ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นสภาวะมีออกซิเจน และลดกรดซิตริกได้ 70 % เนื่องจากการแลกเปลี่ยนอิออนของแคลเซียมคาร์บอเนต นอกจากนี้อาจเนื่องมาจากเส้นใยโปรตีนของมิวโคพอลีแซคคาไรด์ ที่เป็นสารโมเลกุลใหญ่ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเปลือกไข่สามารถแลกเปลี่ยนประจุกับสารอินทรีย์ได้

ประสิทธิภาพในการดูดซับของเปลือกไข่ใกล้เคียงกับ Amberite XAD-12 และ Duolite A378 แต่ Amberite XAD -12 ทำให้ค่าองศาบริกซ์เปลี่ยนแปลง 7 เปอร์เซ็นต์ ถึงแม้ว่า Duolite A378 สามารถลดปริมาณlimoninและnaringinได้ใกล้เคียงกับเปลือกไข่ก็ตาม แต่มีประสิทธิภาพในการลดกรดซิตริกได้ 30 %

2.6.3) วิธีการใช้วัตถุเจือปน

จากการทดลองโดยขจัดสารที่ทำให้เกิดความขมด้วย Florisil (activated magnesium silicate) พบว่า Florisil จะสามารถลดปริมาณกรดซิตริก และสารที่ทำให้เกิดรสขม คือ limonin และนาริงจิ้น ลงไปพร้อม ๆ กัน โดยไม่ทำให้ปริมาณของascorbic acid และ total soluble solid เปลี่ยนแปลงไป และจากการทดสอบประสาทสัมผัส พบว่าผู้ชิมสามารถแยกความแตกต่างระหว่างน้ำเกรฟฟรุตที่เติม Florisil กับน้ำผลไม้ที่ไม่ได้เติม Florisil ได้ (Barmore *et al.*, 1986)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุชาดาและคณะ (2540) ได้ทดลองใช้ Florisil สามารถลดความขมในน้ำมะนาวในรูป D- limonin ได้สูงสุดถึง 51 % เมื่อเทียบกับมะนาวสด และคุณสมบัติของน้ำมะนาวโดยเฉพาะค่า pH และ titratable acidity เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย แต่ค่าascorbic acidลด 25 %

2.6.4) การใช้จุลินทรีย์และเอนไซม์

การใช้เอนไซม์เข้าทำปฏิกริยากับสารให้ความขมที่อยู่ในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม แล้วเปลี่ยนไปเป็นสารที่ไม่มีรสขมหรือขมน้อยลง สารที่มีรสขมอยู่ในน้ำผลไม้มีหลายตัว และเอนไซม์มีความจำเพาะกับสับสเตรท (Substrate) ดังนั้นการใช้เอนไซม์เพื่อกำจัดรสขมจึงมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องหลายตัว เช่น

1) เอนไซม์ที่ใช้ในการกำจัดรสขมเนื่องจากlimonin

limoninเป็นสารประกอบลิโมนอยด์ที่ให้รสขมในพืชตระกูลส้ม โดยธรรมชาติจะถูกสร้างขึ้นในรูปลิโมโนเอท เอ ริง แลคโตน (limonoate A ring lactone) ซึ่งไม่มีรสขม ซึ่งสามารถป้องกันโดยใช้เอนไซม์

2) เอนไซม์ที่ใช้ในการกำจัดรสขมเนื่องจาก naringin

Hasegewa (1983) พบว่า เอนไซม์นาริงจิเนส จากเชื้อรา (fungal naringinase) เป็น Mixture enzyme ประกอบด้วย α-rhamnosidase และ β -glucosidase ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล สามารถย่อยสลาย naringin เป็น พรูนิน (prunin) ซึ่งมีรสขมเล็กน้อย แต่ถ้าเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นถึง 50 องศาเซลเซียล naringin จะเปลี่ยนเป็นสารพวก ไกลโคล (glycone) และนาริงจินิน (naringenin) ซึ่งไม่มีรสขม การใช้วิธีนี้อาจจะเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของน้ำผลไม้โดยปฏิกิริยาเคมีหรือการเปลี่ยนแปลง คุณค่าทางโภชนาการ สี และรสชาติ

กนกพรรณ (2550) ได้สรุปข้อเสียการลดความขมทั้ง 3 วิธี ได้แก่ วิธีทางกายภาพ วัตถุเจือปน และทางเคมี ดังนี้

1) ต้องมีการกำจัดน้ำมัน ไข กาก ในน้ำผลไม้ และทำการผสมองค์ประกอบดังกล่าวรวมกันในสัดส่วนพอเหมาะ ร่วมกับการลดความขมและทำให้น้ำผลไม้ใส ซึ่งการใช้วิธีการดังกล่าวไม่สะดวกต่อการผลิต

2) คอลัมน์ที่ใช้ในการดูดซับจะถูกเปลี่ยนรูปด้วยสารละลายอัลคาไลน์เจือจาง เพื่อนำกลับมาใช้ต่อเนื่อง ซึ่งส่งผลกระทบต่อลักษณะเนื้อและคุณภาพของน้ำผลไม้ โดยสูญเสียความเป็นกรด ความหวาน รสชาติ และเกิดความขุ่น เนื่องจากการขาดประสิทธิภาพของการใช้สารดูดซับความขม

3) วิธีการที่ใช้อาจจะเปลี่ยนองค์ประกอบของน้ำผลไม้โดยปฏิกริยาเคมีหรือการเปลี่ยนแปลง คุณค่าทางโภชนาการ สี และรสชาติ

4) วิธีการที่ใช้ไม่มีความจำเพาะและไม่มีประสิทธิภาพ

5) วิธีการในขั้นตอนกาสกัดมีผลมีผลต่อผลผลิต คุณภาและสมบัติของน้ำผลไม้ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตได้ เช่น ในการสลายสาร naringin ด้วยกรด ผลผลิตที่ได้นอกจากแรมโนสและกลูโคสแล้วยังได้อะไกลโคน และนาริงจินิน ดังนั้นการสลายด้วยกรดเป็นวิธีที่ไม่เหมาะสมต่อกระบวนการผลิตในเชิงการค้า

ข้อเสียการการลดความขมในวิธีการใช้จุลินทรีย์และเอนไซม์

การใช้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบในน้ำส้ม ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติของน้ำส้ม เกิดการตกตะกอนของสารให้ความขม เช่น น้ำตาลและเพ็กทินเป็นองค์ประกอบในน้ำส้มที่มีอิทธิพลต่อการละลายผลึกของ limonin เมื่อใช้เอนไซม์เพ็กทิเนสไปย่อยสารประกอบเพ็กทินในน้ำส้ม ทำให้สารที่แขวนลอยอยู่ตกตะกอน และดึงเอาสารให้ความขมตกตะกอนลงมาด้วย

ดังนั้นการใช้เอทธิลีนเพื่อลดความขมน่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสมในการกำจัดสารให้ความขมมากกว่าวิธีที่กล่าวมาข้างต้น และไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีในน้ำผลไม้ด้วย

2.6.5) การลดความขมโดยเอทธิลีน

ส้มโอเป็นผลไม้ตระกูลส้มที่จัดเป็นผลไม้ประเภท Non–climacteric มีการสร้างเอทธีลีนเพียงเล็กน้อยเพียง 0.1-0.2 ppm (จิรา, 2531) เอทธีลีนสามารถลดปริมาณlimoninได้เนื่องจากทำให้ ลิโมโนเอท เอริง แลคโตน (Limonoate A– ring lactone) หยุดการเปลี่ยนไปเป็น limonin ซึ่งหากใช้เอธีลีนสัมผัสกับผลไม้ตระกูลส้มเพียงชั่วระยะเวลาหนึ่งจะเป็นผลดีในการประหยัดต้นทุนและยังได้รสชาดที่ดีกว่าการใช้เอธีลีนตลอดการทดลอง (Maier *et al.*, 1971)

Albach *et al.* (1981) รายงานว่า เวลาในการเก็บเกี่ยวผลไม้มีผลต่อปริมาณ limonin ในผลไม้ตระกูลส้ม กล่าวคือ ถ้าหากเก็บผลไม้ในช่วงต้นฤดู ปริมาณlimoninจะสูง แต่ถ้าเก็บในช่วงปลายฤดู ปริมาณlimoninจะต่ำ และถ้าผลแก่จัดปริมาณ limoninจะลดต่ำลง Maier *et al.* (1971) ได้ทำการทดลองให้ส้มพันธุ์ Navel ส้มผัสกับเอทธีลีน 20 ppm หลังจากนั้นนำไปเก็บในภาชนะที่ไม่มีเอทธีลีนเป็นเวลา 5 วัน เปรียบเทียบกับการใส่เอธีลีน 20 ppm ในภาชนะตลอดการทดลอง ตั้งทิ้งไว้ที่ 70 องศาฟาเรนไฮต์ พบว่า ปริมาณlimoninที่ลดลงทั้ง 2 การทดลองไม่แตกต่างกันมากนักคือ 32 % และ 36 %ตามลำดับ

การให้เอทธีลีนสัมผัสผลส้มในช่วงต้นฤดูกาล เป็นเวลา 8 – 24 ชั่วโมง เพื่อให้ส้มเกิดการเปลี่ยนแปลงสีผิวจากสีเขียวเป็นสีเหลืองจะมีส่วนลดปริมาณlimoninได้ด้วย ความขมจะลดลงเมื่อเก็บอุณหภูมิ 30^{o}C ดีกว่าที่ 20^{o}C และการเพิ่มระยะเวลาในการเก็บ ถ้านำผลไม้ไปผ่านด้วยเอทธีลีนอีกก็จะช่วยลดความขมได้มากขึ้น (Sakamoto *et al.*, 1985)

การให้เอทธิลีนจากภายนอกของผลไม้ไม่เพียงแต่กระตุ้นให้มีการหายใจเพิ่มขึ้นเท่านั้น แต่ยังกระตุ้นให้ผลสร้างเอทธีลีนขึ้นเองได้ด้วยเรียกว่า Autocatalytic Ethylene Producing System เอทธีลีนที่ถูกสร้างขึ้นหรือถูกกระตุ้นในจุดใดจุดหนึ่งจะกระตุ้นเซลล์ที่อยู่ใกล้เคียงและไกลออกไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้เกิดการสร้างเอทธีลีนเพิ่มขึ้นทำให้เซลล์ภายในผลิตผลมีการสร้างเอทธีลีนขึ้นพร้อมกัน (จิรา, 2531) Maier *et al.* (1973) พบสารที่สลายตัวให้เอทธีลีนคือ 2-chloroethylphosphonic acid (CEPA) ผลการทดลองใช้ CEPA 1000 ppm สัมผัสกับผล เลมอล เป็นเวลา 0 6 13 20 และ 27 วัน ตามลำดับ พบว่าปริมาณ limoninบนผิวเปลือก (Peel) มีปริมาณ 374 285 และ 138 ppm ตามลำดับ ส่วนปริมาณ limonin ในน้ำมีปริมาณ 6 5 2.9 2.4 และ 1.6 ppm ตามลำดับ อย่างไรก็ตามสาร CEPA ยังต้องมีการศึกษาด้าน toxicological ต่อไป ก่อนที่จะได้รับอนุญาตจาก FAD

Maier *et al.* (1973) ได้ทดลองใช้เอทธีลีนสัมผัสกับ ส้มพันธุ์ Navel ในระดับปริมาณต่างๆ คือ 0 0.2 1.8 24 และ 183 ppm เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นย้ายไปเก็บในภาชนะที่ไม่มีเอทธีลีนและเก็บที่อุณหภูมิ 60 องศาฟาเรนไฮต์ เป็นเวลา 6 วัน ผลการทดลองปรากฏว่าปริมาณ limonin ส่วนของน้ำส้มลดลง 25 27 29 38 และ 39 % ตามลำดับ การใช้ปริมาณเอทธีลีนที่ระดับ 24 ppm กับ 183 ppm ไม่ทำให้ปริมาณ limonin ที่ลดลงแตกต่างกันมาก และที่ระดับ 183 ppm ทำให้เกิดรสชาติผิดปกติ และปริมาณ limonin สามารถจะลดลงได้อีกหากมีการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นอีก นอกจากนี้ยังมีข้อสรุปได้ว่าเอทธีลีนไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง naringin และ ascorbic acid

Maier *et al.* (1980) ได้ทำการยับยั้งการสังเคราะห์ลิโมนอยด์โดยใช้สารเคมีในกลุ่ม Triethylamine derivative เช่น 2-(4-ethlphenoxy) triethylamine และ 2-(3,4-dimethylphenoxy)-triethylamine สารเหล่านี้สามารถยับยั้งการสะสมของสารลิโมนอย์ในใบของผลไม้ตระกูลส้ม เช่น ใบของต้นเลมอนที่ฉีดพ่นด้วย 2-(4-ethlphenoxy) triethlamine เข้มข้น 500 ppm จะมีความเข้มข้นของ limonoic acid A-ring lactoneเพียง 27 ppm หลังจากที่ฉีดพ่นแล้ว 8 วัน ในขณะที่ใบที่ไม่ได้ฉีดพ่นด้วยสารนี้จะมีความเข้มข้นของสารลิโมนอย์ถึง 344 ppm

สุวรรณา และ ระติพร (2544) ได้นำเอทธีลีนไปลดความขมในผลมะนาวพบว่าสภาวะที่สามารถลดปริมาณlimoninได้ดี คือ ปริมาณเอทธิลีน 20 ppm สัมผัสกับผลมะนาวเป็นเวลา 3 ชั่วโมง สามารถลดปริมาณ limonin ได้ 56.59 % แต่เอทธิลีนไม่มีผลต่อปริมาณ naringin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

120221

บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

ส้มโอพันธุ์ทองดีที่ปลูกเป็นการค้า เก็บเกี่ยวที่ระดับความแก่ที่เหมาะแก่การแปรรูปน้ำผลไม้ จากแหล่งเพาะปลูกที่อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม

3.1.2 สารเคมี

1) สารมาตรฐาน ได้แก่ Limonin and nomilin (Sigma-Aldrich , St Louis,USA).

Naringin (naringenine-7-rhamnosido-glucoside, NAR), eriocitrin (eriodictyol 7-O-β-rutinoside), neoeriocitrin (eridictyol 7-o-neohesperidoside), และ Ethylene จาก BOC-Scientific (Thailand).

2) Acetonitrile (HPLC grade, from Labscan Asia Co., Ltd, Thailand)

3) Methanol from Labscan Asia Co., LTD

4) Phenolphthalein ($C_{20}H_{14}O_4$) from Merck (Darmstadt, Germany)

5) Sodium hydroxide (NaOH) from Merck (Darmstadt, Germany)

6) Potassium hydrogen phthalate ($KHC_8H_4O_4$) from Merck (Darmstadt, Germany)

7) Sodium 2, 6-dichloroindophenol from Merck (Darmstadt, Germany)

8) Sodium bicarbonate ($NaHCO_3$) from Merck (Darmstadt, Germany)

9) Metaphosphoric acid (HPO_3) from Merck (Darmstadt, Germany)

10) Ascorbic acid ($C_6H_8O_6$) from Merck (Darmstadt, Germany)

3.1.3 เครื่องมือ

- Water HPLC (USA) system with two hydraulic pumps (model 515), an injection system (U6K), a Novapak C_{18} Column (3.9 x 150 mm, pore size 4 μm), a C_{18} guard column, a UV-VIS detector (model 2478), and a computerized recorder/integrator (model Millennium 32).

- Gas Chromatography (Shimadzu Model GC-8A, Japan) The column was parapak Q column (2 mm x 4 mm O.D) GL Science. Inc. Flame ionization detector and integrator.

- Spectrophotometer (Shimudzu Model UV-1601, Japan)

- Blender (Moulinex Model A 327 R7, French)

- Handy Colorimeter (NR-300) Nippon denshoku Kogyo Co.,LTD

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Refractometer (Atago N1 Brix 0-32%, Japan)
- Digital pH meter (CG 842 Schott, Germany)

3.2 วิธีการทดลอง

ในการศึกษาผลของเอทธิลีนต่อการลดความขมในส้มโอได้ใช้ ตัวอย่าง 4 แบบ คือ

แบบที่ 1) ส้มโอทั้งผล

แบบที่ 2) ส้มโอที่ปอกเปลือกนอก (flavedo) และเปลือกชั้นใน (albedo) เหลือเยื่อเปลือกชั้นในสีชมพูอ่อนบางๆ

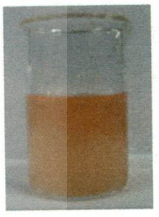
แบบที่ 3) เนื้อกุ้งส้มโอ ((juice sac membranes) เป็นส่วนใช้บริโภคสด

แบบที่ 4) น้ำส้มโอ (juice) ซึ่งเป็นส่วนที่กรองเอาเนื้อเยื่อต่างๆออกโดยนำไปผ่านการกรองโดยใช้เครื่องแยกกาก

รูปที่ 3.1 ส้มโอพันธุ์ทองดี (แบบที่ 1)

รูปที่ 3.2 ส้มโอพันธุ์ทองดี (แบบที่ 2)

รูปที่ 3.3 ส้มโอพันธุ์ทองดี (แบบที่ 3)



รูปที่ 3.4 น้ำส้มโอพันธุ์ทองดี (แบบที่ 4)

3.2.1 ศึกษาผลของเอทธีลีนและระยะเวลาในการสัมผัสส้มโอทั้งผล (แบบที่ 1) ต่อปริมาณ limonin

นำผลส้มโอที่มีระดับความแก่ที่เหมาะสมมาทำความสะอาดและบรรจุในถังทดลองถังละ 1 ผล เพื่อให้ได้รับเอธิลีนโดยทั่ว จำนวน 3 ถังต่อหนึ่งการทดลอง ปล่อยกาซเอธิลีนที่มีความเข้มข้น 0 50 100 และ 200 ppm ให้สัมผัสส้มโอเป็นระยะเวลา 0 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำผลส้มโอออกจากถังเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ limoninใน เปลือกชั้นนอก (flavedo) เปลือกชั้นนอก (albedo) เนื้อกุ้ง (juice sac membranes) และน้ำ (juice) ในส่วนของน้ำวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ascorbic acid, total titrable acidity , total soluble solid (^{O}Brix) และ pH)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.1.1) การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ limonin

1) นำเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน และเนื้อกุ้ง เข้าสู่กระบวนการทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer ที่อุณหภูมิ -40°C จนตัวอย่างแห้ง หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาบดละเอียดวิเคราะห์ปริมาณlimoninด้วย HPLC

2) น้ำส้มโอไปผ่านกระบวนการเหวี่ยงหนีศูนย์ (centrifugation) ที่ความเร็วรอบ 4,500 rpm 20 นาที ปิเปตส่วนใสมาวิเคราะห์ปริมาณ limonin ตามวิธี Shaw and Wilson (1984) ปริมาณ ascorbic acid โดยวิธี AOAC, (1999) ปริมาณ total titrable acidity โดยวิธี AOAC, (1999) ปริมาณ total soluble solid (°Brix)โดยใช้ refractometer, (Atago N1 Brix 0-32%, Japan) และปริมาณ pH โดยวิธีเครื่อง digital pH meter (CG 842 Schott, Germany)

3.2.1.2 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Split-plot Design โดยกำหนดให้ Main plot คือ ระยะเวลาที่เอทธิลีนสัมผัสกับผลส้มโอ Sub plot คือ ระดับความเข้มข้นของเอทธิลีน

ทำการทดลอง 3 ซ้ำวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธี ANOVA เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแต่ละทรีตเมนต์ด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และวิเคราะห์สหสัมพันธุ์ (The Pearson's correlation coefficient) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

3.2.2) ศึกษาผลของเอทธีลีนและระยะเวลาในการสัมผัสผลส้มโอที่ปอกเปลือกนอก และเปลือกชั้นในเหลือเยื่อเปลือกชั้นในสีชมพูอ่อน (แบบที่ 2) ต่อปริมาณ limonin

นำผลส้มโอพันธุ์ทองดีมาปอกเปลือกชั้นนอกและชั้นในสีชมพูอ่อน บรรจุลงในถังทดลองบรรจุเอทธีลีน หลังจากนั้นปล่อยก๊าซปล่อยกาซเอธิลีนที่มีความเข้มข้น 0 50 100 และ 200 ppm ให้สัมผัสส้มโอเป็นระยะเวลา 1 2 3 และ 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำผลส้มโอออกจากถังเพื่อวิเคราะห์หา ปริมาณ limonin ในเนื้อกุ้ง (juice sac membranes) และน้ำ (juice) ในส่วนของน้ำวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

การเตรียมตัวอย่างและการวางแผนการทดลองเช่นเดียวกับ 3.2.1

3.2.3) ศึกษาผลของเอทธีลีนและระยะเวลาในการสัมผัสผลส้มโอที่ลอกเยื่อบางๆหุ้มเนื้อกุ้งส้มโอ (แบบที่3) ต่อปริมาณ limonin สารฟลาโวโนน องค์ประกอบทางเคมี และทดสอบประสาทสัมผัส

นำเนื้อกุ้งส้มโอ (juice sac membranes) บรรจุลงในถังทดลองบรรจุเอทธีลีน หลังจากนั้นปล่อยก๊าซปล่อยกาซเอธิลีนที่มีความเข้มข้น 0 50 100 และ 200 ppm ให้สัมผัสส้มโอเป็นระยะเวลา 0.30 1 1.30 และ 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำผลส้มโอออกจากถังเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ limonin ในเนื้อกุ้ง (juice sac membranes) และน้ำ (juice) ในส่วนของน้ำวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบทางเคมี เช่นเดียวกับ 3.6.1 nomilinโดยวิธี HPLC ตามวิธี Shaw and Wilson (1984) สารฟลาโวโนนโดยวิธี HPLC ตามวิธี Rouseff, (1988) และทดสอบทางประสาทสัมผัสทางด้านรสขม

การเตรียมตัวอย่างและการวางแผนการทดลองเช่นเดียวกับ 3.2.1

ทดสอบทางประสาทสัมผัสในน้ำส้มโอที่ผ่านการลดความขม

การทดสอบคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของรสขมนี้ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนทั้งหมด 10 คน ตามวิธีในภาคผนวก ฎ การทดสอบทางประสาทสัมผัสใช้วิธี different test วางแผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized complete block design) และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดย ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3.2.4) ศึกษาผลของเอทธีลีนและระยะเวลาในการสัมผัสน้ำส้มโอ (แบบที่ 4) ต่อปริมาณ limonin

นำเนื้อส้มโอมาคั้นน้ำโดยใช้เครื่องแยกกากและน้ำ นำน้ำส้มโอจำนวน 500 ml มาบรรจุในขวดสูญญากาศ ขนาด 1500 มล.ขนาด 1500 ml หลังจากนั้นปล่อยก๊าซปล่อยกาซเอธิลีนที่มีความเข้มข้น 0 50 และ 200 ppm ให้สัมผัสส้มโอเป็นระยะเวลา 5 10 15 และ 20 นาที เมื่อครบเวลานำผลส้มโอออกจากถังเพื่อวิเคราะห์หา ปริมาณ limonin ในน้ำส้มโอ

การเตรียมตัวอย่างและการวางแผนการทดลองเช่นเดียวกับ 3.2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1) ผลของเอทธีลีนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ limonin ในเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อกุ้ง และน้ำส้มโอจากผลส้มโอทั้งผล

ตารางที่ 4.1 ปริมาณ limonin (mg/L) ในเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน เนื้อกุ้ง และ น้ำส้มโอจาก ผลส้มโอ

Ethylene (ppm)	Time of exposure (hours)				
	0	12	24	36	48
	Limonin in flavedo (as dry weight)				
0	264.11	252.91 (4.24%)	243.54 (7.79%)	255.85 (3.12%)	260.82(1.24%)
50		219.29(16.97%)	194.37(26.40%)	160.09(39.38%)	143.00(45.85%)
100		211.34 (19.98%)	170.76 (35.34%)	150.73 (42.93%)	129.49 (50.97%)
200		199.66(24.40%)	147.73(44.06%)	97.21(63.19%)	90.94(65.57%)
	Limonin in albedo (as dry weight)				
0	423.90	412.59(2.67%)	417.78(1.44%)	414.84(2.14%)	408.90(3.54%)
50		410.33(3.20%)	366.54(13.53%)	321.08(24.26%)	303.82(28.33%)
100		403.69(4.77%)	324.55(23.44%)	282.72(33.31%)	280.24(33.89%)
200		401.30(5.33%)	304.73(28.11%)	271.56(35.94%)	173.11(59.16%)
	Limonin in juice sac membranes (as dry weight)				
0	623.91	633.30(0%)	637.44(0%)	625.48(0%)	632.88(0%)
50		612.34(1.85%)	546.90(12.34%)	534.24(14.37%)	507.16(17.71%)
100		609.03(2.38%)	521.42(16.43%)	520.66(16.55%)	468.85(24.85%)
200		450.31(27.82%)	446.97(28.36%)	445.84(28.54%)	407.14(34.74%)
	Limonin in juice(as wet weight)				
0	30.12	29.42(2.32%)	28.50(5.38%)	29.12(3.32%)	29.93(0.63)
50		29.18(3.12%)	28.63(4.95%)	28.39(5.74%)	29.38(2.46%)
100		29.02(3.65%)	28.56(5.18%)	28.08(6.77%)	27.83(7.60%)
200		28.00(7.04%)	27.03(10.26%)	26.75(11.19%)	26.18(13.08%)

F-test		Ethylene concentrate	Time of exposure
	Flavedo	*	*
	Albedo	*	*
	juice sac membranes	*	*
	Juice	NS	NS

Note: * significant different at $p \leq 0.05$ ns = not significant
( ) mean the limonin reduction (%)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากที่นำผลส้มโอพันธุ์ทองดีทั้งผลที่ไม่ได้ปอกเปลือกชั้นนอกและชั้นใน (แบบที่1) บรรจุลงในถังทดลองหลังจากนั้นปล่อยก๊าซปล่อยกาซเอธิลีนที่มีความเข็มข้น 0 50 100 และ 200 ppm ให้สัมผัสผลส้มโอเป็นระยะเวลา 1 2 3 และ 4 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดระยะเวลานำผลส้มโอออกจากถัง นำไปวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสารเคมีต่างๆ ในแต่ละส่วนของผลส้มโอ พบว่าปริมาณเอธีลีนและระยะเวลา มีผลต่อการลดปริมาณlimoninทั้งเปลือกชั้นนอก เปลือกชั้นใน และเนื้อกุ้ง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ส่วนปริมาณเอธีลีนและระยะเวลาไม่มีผลต่อการลดปริมาณ limoninในน้ำส้มโอ

เอทธิลีนมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ limonin ในผลส้มโอทุกส่วน ได้ดีกว่าที่ไม่ได้ใช้เอทธิลีนและการเพิ่มปริมาณเอทธิลีนและระยะเวลานานขึ้นมีผลต่อการลดปริมาณ limonin ได้ดีกว่าการใช้เอทธิลีนที่ระดับต่ำและระยะเวลาสั้นเช่นกัน ดังนั้นการใช้เอทธิลีน 200 ppm 48 ชั่วโมง มีการตอบสนองต่อการลดปริมาณlimoninสูงสุดคือบริเวณเปลือกชั้นนอกลดจาก 264.11 mg/L เหลือ 90.94 mg/L (65.57%) เปลือกชั้นในลดจาก 423.90 mg/L เหลือ 173.11 mg/L (59.16%) เนื้อเยื่อลดจาก 623.91 mg/L เหลือ 407.14 mg/L (34.74%) และ น้ำส้มโอลดจาก 30.12 mg/L เหลือ 28.18 mg/L (13.08%) แต่ในกรณีของน้ำส้มโอการใช้เอทธิลีนกับทั้งผลมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ limonin น้อยมากคือลด 3.12-13.08 % ขึ้นอยู่กับระยะเวลา และความเข้มข้น (ตารางที่ 4.1)

การที่ส้มโอมีความหนาของเปลือกมาก คือประมาณ 1.50 -2.00 เซนติเมตร (Department of agriculture, 2002) เปลือกชั้นนอกและเปลือกชั้นในประกอบไปด้วย เซลล์จำนวนมากมาย เช่น ต่อมน้ำมัน (oil grand) เนื้อเยื่อขาว (spongy tissue) ของเซลล์ parenchyma ที่มีขนาดใหญ่ เพคตินและเฮมิเซลลูโลส จึงมีส่วนซึ่งทำให้เอทธีลีนจากภายนอกสามารถผ่านไปถึงส่วน juice sacs ได้ช้า จึงทำให้การทดลองครั้งนี้มีการลดปริมาณlimoninในส่วนน้ำส้มโอลดลงน้อยมาก นอกจากนี้เอทธิลีนไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี (ปริมาณascorbic acid ปริมาณ total titrable acidity ปริมาณ total soluble solid (^{o}Brix) และปริมาณ pH) ของน้ำส้มโอ ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ผลส้มโอที่ปอกเปลือกชั้นนอกและเปลือกชั้นในโดยเหลือเยื่อเปลือกชั้นในสีชมพูอ่อนบางๆ(แบบที่ 2)

4.2) ผลของเอทธีลีนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ limonin ในเนื้อกุ้ง และน้ำส้มโอจากผลส้มโอที่ปอกเปลือกชั้นนอกและเปลือกชั้นใน เหลือเยื่อเปลือกชั้นในสีชมพูอ่อนบางๆ

หลังจากที่นำผลส้มโอพันธุ์ทองดีมาปอกเปลือกชั้นนอกและเปลือกชั้นในเหลือเยื่อสีชมพูอ่อนบางๆ (แบบที่ 2) บรรจุลงในถังพลาสติกชนิดหนา หลังจากนั้นปล่อยก๊าซเอธิลีนที่มีความเข็มข้น 0 50 100 และ 200 ppm ให้สัมผัสผลส้มโอเป็นระยะเวลา 1 2 3 และ 4 ชั่วโมง เมื่อครบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กำหนดระยะเวลา นำผลส้มโอออกจากถัง เพื่อนำไปวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสารเคมีต่างๆ ในส่วนของเนื้อกุ้งและน้ำส้มโอ

ตารางที่ 4.2 ปริมาณ limonin (mg/L) ในเนื้อกุ้ง และ น้ำส้มโอ จากผลส้มโอที่ปอกเปลือกชั้นนอกและเปลือกชั้นใน เหลือเยื่อเปลือกชั้นในสีชมพูอ่อนบางๆ

Ethylene (ppm)	Time of exposure (hours)				
	0	1	2	3	4
Limonin in juice sac membranes (as dry weight)					
0	398.24	384.53 (3.44%)	423.71 (0%)	381.92 (4.10%)	399.92 (0%)
50		373.76 (6.15%)	338.91 (14.90%)	284.12 (28.66%)	201.78 (49.33%)
100		342.42 (14.02%)	251.12 (36.94%)	231.01 (41.99%)	175.30 (55.98%)
200		285.26 (28.37%)	174.77 (56.11%)	144.86 (63.62%)	105.38 (73.54%)
Limonin in juice(as wet weight)					
0	25.37	24.37 (3.94%)	23.49 (7.41%)	23.88 (5.87%)	24.08 (5.08%)
50		21.87 (13.80%)	20.62 (18.72%)	16.10 (36.54%)	11.12 (56.17%)
100		17.50 (31.02%)	14.86 (41.43%)	9.31 (63.30%)	8.32 (67.21%)
200		11.63 (54.16%)	7.83 (69.14%)	6.23 (75.44%)	4.79 (81.12%)
			Ethylene concentrate		Time of exposure
F-test	Juice sac membranes		*		*
	juice		*		*

Note: * significant different at $p \leq 0.05$
( ) mean the limonin reduction (%)

พบว่าปริมาณเอธีลีนและระยะเวลา มีผลต่อการลดปริมาณ limonin บริเวณเนื้อกุ้ง และน้ำส้มโออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาปัจจัยร่วมระหว่างปริมาณเอธีลีนและระยะเวลา พบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างสองปัจจัยมีผลต่อการลดปริมาณ limonin เนื้อกุ้งและน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อทำการปอกเปลือกชั้นนอกและเปลือกชั้นในโดยเหลือเยื่อเปลือกชั้นในสีชมพูอ่อนบางๆหุ้มเนื้อกุ้งนำไปสัมผัสกับเอทธีลีน พบว่าการใช้เอทธิลีนมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ limoninได้ดีขึ้น คือการใช้เอทธิลีน 200 ppm 4 ชั่วโมง ทำให้สามารถลดปริมาณ limonin สูงสุดคือบริเวณเนื้อกุ้งลดจาก 398.24 mg/L เหลือ 105.38 mg/L (73.54%) และ น้ำส้มโอลดจาก 25.37 mg/L เหลือ 4.79 mg/L (81.12%) สภาวะที่มีผลต่อการลดปริมาณ limonin บริเวณเนื้อกุ้งมากกว่า 50 % ได้แก่ การใช้เอทธิลีน 50 ppm 4 ชั่วโมงลดปริมาณ limonin 49.33% การใช้เอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทธิลีน 100 ppm 4 ชั่วโมงลดปริมาณ limonin 55.98% การใช้เอทธิลีน 200 ppm 2 และ 3 ชั่วโมงลดปริมาณlimonin 56.11 และ 63.62 %

ในส่วนของน้ำส้มโอสภาวะที่มีผลต่อการลดปริมาณ limonin มากกว่า 50% ได้แก่การใช้เอทธิลีน 50 ppm 4 ชั่วโมงลดปริมาณlimonin 56.17% การใช้เอทธิลีน 100 ppm 3 และ 4 ชั่วโมงลดปริมาณlimonin 63.30 และ 67.21 % การใช้เอทธิลีน 200 ppm 1 2 และ 3 ชั่วโมงลดปริมาณ limonin 54.14 69.14 และ 75.44 %

เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสัมผัสและลดสิ่งสิ่งกีดขวางเอทธิลีน จะช่วยลดปริมาณ limonin ในน้ำได้ดีขึ้น จึงลอกเอาเนื้อเยื่อบางๆ ที่หุ้มเนื้อกุ้งออกในการทดลองต่อไปจึงใช้ผลส้มโอที่ปอกเปลือกชั้นนอกและเปลือกชั้นในให้เหลือเนื้อกุ้ง (แบบที่ 3)

การทดลองนี้ถึงแม้จะปอกเปลือกชั้นในและชั้นนอกออกแล้วแต่เอทธิลีนไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี (ปริมาณ ascorbic acid ปริมาณ total titrable acidity ปริมาณ total soluble solid (^{O}Brix) และปริมาณ pH) ของน้ำส้มโอ เช่นกัน

4.3) ผลของเอทธีลีนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ limonin ในเนื้อกุ้งและน้ำส้มโอจากส้มโอที่ลอกเยื่อบางๆหุ้มเนื้อกุ้งส้มโอ

นำส้มโอที่เหลือเฉพาะส่วนของเนื้อกุ้งส้มโอ (แบบที่ 3) บรรจุลงในถังทดลองเอทธิลีน หลังจากนั้นปล่อยก๊าซปล่อยกาซเอธิลีนที่มีความเข็มข้น 0 50 100 และ 200 ppm ให้สัมผัสผลส้มโอเป็นระยะเวลา 0.30 1 1.30 และ 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดระยะเวลานำส้มโอออกจากถังเพื่อนำไปวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสาร limonin พบว่าการใช้ปริมาณเอธีลีนและระยะเวลามีผลต่อการลดปริมาณ limonin บริเวณเนื้อกุ้ง และน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาปัจจัยร่วมระหว่างการใช้ปริมาณเอธีลีนและระยะเวลา พบว่าอิทธิพลร่วมทั้งสองปัจจัยมีผลต่อการลดปริมาณ limonin เนื้อกุ้งและน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ปริมาณlimonin (mg/L) เนื้อกุ้ง และ น้ำส้มโอ จากผลส้มโอที่ลอกเยื่อบางๆหุ้มเนื้อกุ้ง ส้มโอ

Ethylene (ppm)	Time of exposure (hours)				
	0	0.30	1.00	1.30	2.00
Limonin in juice sac membranes (as dry weight)					
0	434.51	414.28 (4.66%)	433.24 (0.29%)	407.31 (6.29%)	414.85 (4.52%)
50		376.99 (13.24%)	308.87 (28.92%)	236.70 (45.52%)	206.24 (52.54%)
100		286.04 (34.17%)	249.26 (42.63%)	158.51 (63.52%)	153.15 (64.75%)
200		291.98(32.80%)	183.04 (57.87%)	120.42 (72.29%)	110.84 (74.49%)
Limonin in juice (as wet weight)					
0	23.68	23.81 (0%)	24.09 (0%)	23.69 (0%)	22.49(5.03%)
50		19.99 (15.58%)	14.80 (37.50%)	13.31 (43.79%)	10.68 (54.90%)
100		11.54 (51.27%)	9.69 (59.08%)	9.43 (60.18%)	8.91 (62.37%)
200		7.28 (69.26%)	6.90 (70.86%)	5.12 (78.38%)	4.62 (80.49%)
			Ethylene concentrate		Time of exposure
F-test	juice sac membranes		*		*
	juice		*		*

Note: * significant different at $p \leq 0.05$
( ) mean the limonin reduction (%)

การปอกเปลือกเปลือกชั้นนอก ชั้นใน และเนื้อเยื่อบางๆออก เหลือแต่เนื้อกุ้ง พบว่าเอทธิลีนมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณ limoninได้ดีขึ้น ดังนั้นการใช้เอทธิลีน 200 ppm 2 ชั่วโมง สามารถลดปริมาณ limonin สูงสุดคือส่วนเนื้อกุ้งลดจาก 434.51 mg/L เหลือ 110.84 mg/L (74.49%) และ น้ำส้มโอลดจาก 23.68 mg/L เหลือ 4.62 mg/L (80.49%) สภาวะที่มีผลต่อการลดปริมาณlimoninส่วนเนื้อกุ้งมากกว่า 50 % ได้แก่ การใช้เอทธิลีน 50 ppm 2 ชั่วโมงลดปริมาณ limonin 52.54% การใช้เอทธิลีน 100 ppm 1.30 และ 2 ชั่วโมงลดปริมาณ limonin 63.52 และ 64.75 % การใช้เอทธิลีน 200 ppm 1 1.30 และ 2 ชั่วโมงลดปริมาณ limonin 57.87 72.29 และ 74.49 % ตามลำดับ

ในส่วนของน้ำส้มโอสภาวะที่มีผลต่อการลดปริมาณ limonin มากกว่า 50% ได้แก่ การใช้เอทธิลีน 50 ppm 2 ชั่วโมงลดปริมาณ limonin 54.90 % การใช้เอทธิลีน 100 ppm ตั้งแต่ 0.30 ชั่วโมงขึ้นไป และ การใช้เอทธิลีน 200 ppm ตั้งแต่ 0.30 ชั่วโมงขึ้นไปเช่นกัน จากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการลดชั้นขัดขวาง เอทธิลีนจะช่วยให้การลดความขมดีขึ้น

การใช้เอทธิลีนไม่มีผลต่อ nomilin และสารฟลาวาโนน เช่น naringin eriocitrin neoeriocitrin (ตาราง 4.4) ส่วนองค์ประกอบทางเคมีก็ไม่ได้รับผลจากการใช้เอทธิลีนเช่นกัน เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ ascorbic acid ปริมาณ total titrable acidity ปริมาณ total soluble solid (^{O}Brix) และ pH (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณ nomilin สารฟลาโวโนน และองค์ประกอบทางเคมีในน้ำส้มโอจากผลเนื้อกุ้งส้มโอ

	control	ระยะเวลา 30 นาที		
		50 ppm	100 ppm	200 ppm
nomilin (mg/L)	21.90^{a}	21.69^{a}	21.27^{a}	20.83^{a}
naringin (mg/L)	383.92^{a}	367.87^{b}	356.05^{b}	325.76^{c}
eriocitrin (mg/L)	18.15^{a}	15.45^{b}	14.06^{b}	14.64^{b}
neoeriocitrin (mg/L)	25.36^{ab}	23.05^{ab}	21.66^{b}	26.93^{a}

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างทางสถติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.5 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำส้มโอจากผลส้มโอจากผลเนื้อกุ้งส้มโอ

เอธิลีน (ppm)	total titrable acidity (%)		pH		total soluble solid (^{O}brix)		ascorbic acid (mg/100 ml)	
	0	1.30 hrs.	0	1.30 hrs.	0	1.30 hrs.	0	1.30 hrs.
0	0.48	0.51	4.07	4.06	11.50	11.00	45.64	45.47
200		0.50		4.03		11.17		45.64

ทดสอบด้านการยอมรับความขมในน้ำส้มโอโดยวิธีทางด้านประสาทสัมผัส

การทดสอบคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของรสขมนี้ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนทั้งหมด 10 คน น้ำส้มโอที่ใช้ในการทดสอบเป็นส้มโอที่ผ่านการลดความขมโดยเอทธิลีนในข้อ 4.3 พบว่าผู้ทดสอบสามารถรับรสขมของปริมาณ limonin ในน้ำส้มโอที่ระดับ limoninตั้งแต่ 14.80 mg/L ขึ้นไป ซึ่งเป็นส้มโอที่ได้จากการลดความขมที่สภาวะใช้เอทธีลีน 50 ppm 1.00 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 คะแนนผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสกับระดับปริมาณ limonin ในน้ำส้มโอ

ปริมาณ limonin (mg/L) ในน้ำส้มโอ	คะแนนระดับ ความขม	ความหมาย
4.62	0	Not bitter
5.12	0	Not bitter
6.90	0	Not bitter
7.28	0	Not bitter
8.91	0	Not bitter
9.69	0	Not bitter
10.68	0	Not bitter
11.54	1	Trace of bitterness
13.31	1.2	Trace to slightly bitterness
14.80	2	Slightly bitterness
19.99	3.4	Bitter to very bitter
23.68	4.6	Very to extremely bitter

4.4) ผลของเอทธีลีนเมื่อสัมผัสกับน้ำส้มโอโดยตรงต่อปริมาณ limonin

หลังจากที่นำเนื้อส้มโอมาคั้นน้ำโดยใช้เครื่องแยกกากและน้ำ นำน้ำส้มโอจำนวน 500 ml (แบบที่ 4) มาบรรจุในขวดแก้วชนิด gas tight ขนาด 1500 ml ปล่อยก๊าซปล่อยกาซเอธิลีนที่มีความเข็มข้น 0 50 และ 200 ppm ให้สัมผัสน้ำส้มโอเป็นระยะเวลา 5 10 15 และ 20 นาที เมื่อครบกำหนดระยะเวลานำน้ำส้มโอออกจากขวด พบว่า การใช้ปริมาณเอธีลีนและระยะเวลา ไม่มีผลต่อการลดปริมาณ limoninในน้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เนื่องจากผลส้มโอถูกทำให้แตกและบีบคั้นทำให้น้ำภายในถุงส้มแตกออกดังนั้น LARL ถูกปิดโครงสร้างเกิดการเปลี่ยนรูปไปเป็น limonin ทันที นอกจากนี้เอทธิลีนไม่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมี

ตารางที่ 4.7 ปริมาณlimonin (mg/L) น้ำส้มโอที่สัมผัสกับเอทธิลีนโดยตรง

Ethylene concentrate (ppm)	Time of exposure (mins)				
	0	5	10	15	20
Limonin in juice (as wet weight)					
0	26.48	26.84	25.88	25.68	26.53
50		25.84	26.23	26.28	28.93
200		27.13	26.55	26.83	26.68
			Ethylene concentrate	Time of exposure	
F-test	Juice		NS	NS	

Note: ns = not significant different at $p \leq 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

1. ส้มโอเป็นผลไม้ประเภท Non-climateric fruit ที่มีปริมาณเอทธิลีนภายในที่ต่ำคืออยู่ในช่วง 0.1-0.2 ppm ดังนั้นการให้เอทธิลีนจากภายนอกแก่ผลไม้ไม่เพียงแต่กระตุ้นให้มีการหายใจเพิ่มขึ้นเท่านั้นแต่ยังกระตุ้นให้ผลไม้เกิดการสร้างเอทธีลีนขึ้นเองได้ด้วยเรียกว่า Autocatalytic Ethylene Producing System เอทธีลีนที่ถูกสร้างขึ้นหรือถูกกระตุ้นในจุดใดจุดหนึ่งจะกระตุ้นเซลล์ที่อยู่ใกล้เคียงและไกลออกไปทำให้เกิดการสร้างเอทธีลีนเพิ่มขึ้นทำให้เซลล์ภายในผลิตผลมีการสร้างเอทธีลีนขึ้นพร้อมกัน (จิรา, 2531)

2. การทดลองนี้พบว่าเอทธีลีนที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm เป็นเวลา 48 ชั่วโมงเป็นสภาวะที่สามารถลดความขมบริเวณเปลือกชั้นนอก (90.94 mg/L, 65.57%) เปลือกชั้นใน (173.11, 59.16%) และเนื้อเยื่อ 407.14 (37.74%) มากที่สุดก็ตามแต่ปริมาณที่เหลือยังมีปริมาณสูงกว่าที่ผู้บริโภคยอมรับได้โดยอ้างอิงจากปริมาณlimoninในน้ำส้มโอ (14.80 mg/L) ถึง 6-27 เท่า เนื่องจากส้มโอมีความหนาของเปลือกมากประมาณ 1.50-2.00 เซนติเมตร (Department of agriculture, 2002) เป็นการขัดขวางการกระตุ้นในการสร้างเอทธิลีนที่เพิ่มขึ้นและทำให้เอทธีลีนไม่สามารถซึมผ่านไปถึงส่วน juice sacs ได้ช้า ทำให้บริเวณน้ำมีการลดปริมาณ limonin น้อยมากคือ 28.33% แม้ใช้สภาวะความเข้มข้นของเอทธิลีนที่สูงระยะเวลานาน

3. เมื่อทำการเปรียบเทียบการปอกเปลือกส้มโอทั้งเปลือกชั้นนอกและชั้นในออกเหลือเพียงเยื่อเปลือกชั้นในบางๆ (แบบที่ 2) เปรียบเทียบกับเนื้อกุ้งส้มโอ (แบบที่ 3) ปริมาณเอทธิลีนที่ความเข้มข้นต่ำสุดคือ 50 ppm 2 ชั่วโมง เท่ากัน ผลส้มโอจากแบบที่ 2 มีปริมาณlimoninลดลงในเนื้อกุ้ง 14.90 % ในน้ำ 18.72 % ในขณะที่เนื้อกุ้งส้มโอแบบที่ 3 ใช้ปริมาณlimoninลดลงมากกว่าแบบที่ 2 คือ ในเนื้อกุ้ง 52.54 % ในน้ำ 54.90 % จากข้อมูลนี้ถึงแม้ว่าจะใช้ปริมาณเอทธิลีนและระยะเท่ากันแต่ปริมาณlimoninที่ลดลงทั้ง 2 ส่วนต่างกันเนื่องจากผลส้มโอแบบที่ 2 เปลือกชั้นในยังปอกไม่หมดซึ่งเป็นส่วนที่ขัดขวางการซึมผ่านของเอธิลีนทำให้ปริมาณ limonin ลดลงน้อยกว่าผลส้มโอที่ปอกเหลือแต่เนื้อกุ้ง ภายในส่วนเนื้อกุ้งประกอบด้วยถุงน้ำจำนวนมากมายส่วนชั้นในสุดประกอบด้วย juice ทำให้การซึมผ่านเอทธิลีนเข้าไปเพื่อกระตุ้นการสร้างเอทธีลีนง่าย เนื่องจากมีผนังสิ่งกีดขวางไม่มาก หรือหนาจนเกินไป กรณีเนื้อกุ้งแบบที่ 3 ใช้ระยะเวลาในการสัมผัสเอทธิลีนสั้นไม่ต้องรอถึง 4 ชั่วโมงสามารถลดปริมาณ limonin ได้มากกว่า 50 %

4. กรณีที่ต้องการลดปริมาณ limonin ให้มาก และไม่มีผนังเซลมาเป็นสิ่งกีดขวางในการแพร่กระจายหรือกระตุ้นให้เกิดการสร้างเอทธิลีนนั้น ผู้วิจัยทำการคั้นเหลือแต่น้ำส้มโอเท่านั้นหลังจากนั้นให้เอทธิลีนจากภายนอกเข้าไปสัมผัสโดยตรง ผลปรากฏว่า การให้เอทธิลีนสัมผัสกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำส้มโอโดยตรงไม่เกิดผลต่อการเปลี่ยนแปลงหรือลดปริมาณ limonin เลย ถึงแม้ว่าจะเพิ่มปริมาณความเข้มข้นเอทธิลีนและระยะเวลานานขึ้นก็ตาม

เนื่องจากหากผลส้มโอหรือผลไม้ตระกูลส้มอื่นๆอยู่ในสภาพทั้งผล สารตั้งต้นภายในจะอยู่ของลิโมโนเอท เอ-ริง แลคโตน (Limonoate A-ring lactone, LARL) ไม่มีรสขม แต่เมื่อผลไม่ถูกทำให้แตก หรือบีบคั้นเพื่อให้น้ำภายในถุงส้มแตกออก LARL จะเกิดการเปลี่ยนรูปไปเป็น limoninทันที โดยมี กรด ด่าง และเอนไซม์ Limonin D-ring lactone hydrolase เป็นตัวเร่งปฏิกริยาให้โครงสร้าง D-ring ของ LARL ปิด (Maier *et al.*,1980)

แต่ในขณะที่ยังไม่มีการทำให้เซลแตก โครงสร้างยังคงอยู่ในรูป LARL (ไม่ขม) การให้เอทธีลีนจากภายนอกเข้าไปกระตุ้นให้เกิดการสร้างเอทธิลีนนั้น เอทธิลีนจะช่วยในการลดความขม เนื่องจาก เอทธิลีน (C_2H_4) ไปรบกวนโครงสร้างหรือไป block ตรงตำแหน่ง OH และ COOH ในวงแหวน D-ring ไม่ให้ปิดหลังจากผลถูกทำให้แตก หรือบีบคั้น ก็ตาม

5. เอทธีลีนไม่มีผลต่อ สาร naringin nomilin และองค์ประกอบทางเคมี (ปริมาณascorbic acid ปริมาณtotal titrable acidity ปริมาณ total soluble solid (^{O}Brix) และ pH ของน้ำส้มโอในทุกสภาวะการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุวรรณา และ ระติพร (2544); Maier *et al.* (1973)

6. การทดสอบทางประสาทสัมผัสน้ำส้มโอที่ได้จากการลดความขมโดยเอทธิลีน พบว่าปริมาณlimoninที่ระดับ 14.80 mg/L ผู้ทดสอบยังยอมรับในรสขมเนื่องจากให้ค่าคะแนนเท่ากับ 2 หมายความว่าความขมเล็กน้อยเท่านั้น กาญจนารัตน์และคณะ (2547) แนะนำว่า การน้ำส้มโอมาผสมกับน้ำผลไม้อื่น เช่น สับปะรด เสาวรส หรืออื่นๆ ที่ไม่มีรสขม ผู้ชิมจะยอมรับน้ำผลไม้ผสมมากกว่าน้ำส้มโอเพียงอย่างเดียว ณัฏฐา และคณะ (2540) รายงานว่า ผู้ทดสอบสามารถรับรสขมของปริมาณ limonin ในน้ำกลั่นที่ระดับ 4 mg/L ใกล้เคียงกับรายงานของ Guadagi *et al.* (1973) ได้ให้ผู้ทดสอบรสขมในน้ำส้ม พบว่า ระดับ limonin ในช่วง 4 5 6 10 และ 32 mg/L จะมีเปอร์เซ็นต์ที่ผู้ทดสอบรับรสขมได้ เท่ากับ 49 62 70 75 91 และ 99.5 % ตามลำดับ ณัฏฐา และคณะ (2540) พบว่าผู้ทดสอบสามารถรับรสขมของปริมาณlimoninในน้ำส้มได้ที่ระดับ 9.78 mg/L ส่วน Wilson and Crutchfield (1968) ได้รายงานว่า ในน้ำผลไม้ที่มีlimoninปนอยู่มากกว่า 9 mg/L มักจะได้รับการปฏิเสธโดยนักชิมส่วนใหญ่ แต่อย่างไรก็ตาม ณัฏฐา และคณะ (2540) กล่าวว่า ไม่จำเป็นต้องลดปริมาณlimoninให้หมดไปหรือมีค่าเท่ากับ 0 ซึ่งน้ำส้มมีน้ำตาลและกรดซึ่ง สามารถบดบังรสขมได้ และการลดปริมาณ limonin ให้หมดไปอาจมีผลกระทบต่อรสชาติและอาจเกิดรสแปลกปลอมของน้ำผลไม้ได้ ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้ การลดความขมในน้ำส้มสามารถลดเหลือเพียง 14.80 mg/L ได้จากการลดความขมที่สภาวะใช้เอทธีลีน 50 ppm 1.00 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. การปอกเปลือกส้มโอจนเหลือเนื้อกุ้งอาจจะต้องพิจารณาเรื่องการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ ดังนั้นควรมีการศึกษาการใช้เอทธิลีนที่อุณหภูมิต่ำ เช่นที่ 4 ^{o}C จะทำให้สามารถรักษาคุณภาพวัตถุดิบได้

2. ในทางปฏิบัติหากต้องการนำเปลือกชั้นนอกเปลือกชั้นในไปทำส้มโอแช่อิ่ม หรือส้มโอเชื่อม ไม่จำเป็นต้องใช้เอทธิลีนในปริมาณสูงถึง 200 ppm เนื่องจากหากระบบการควบคุมก๊าซไม่ปลอดภัยเพียงพอ อาจทำให้เกิดการลุกไหม้ได้ และ การใช้ความเข้มข้นสูงเป็นการสิ้นเปลือง ดังนั้นควรใช้ในปริมาณต่ำ 50 ppm แต่ระยะเวลานานขึ้นคือ 36 ชั่วโมง ก็สามารถลดปริมาณ limonin ได้ในระดับหนึ่งคือ เปลือกชั้นนอกลดได้ 39.38% และเปลือกชั้นในลดได้ 24.26% หลังจากนั้นใช้กระบวนการอื่นร่วม เช่น การแช่ในสารละลายด่าง

3. ทางอุตสาหกรรมหากต้องการนำเปลือกส้มโอมาทำผลิตภัณฑ์ส้มโอ เช่น เปลือกส้มโอแช่อิ่ม เปลือกส้มโอเชื่อม แยมส้มโอ สามารถใช้กรรมวิธีอื่นร่วม เช่นการนำเนื้อส้มโอไปแช่ในน้ำเกลือ (อุมาภรณ์ และคณะ, 2546) สามารถดัดแปลงมาแช่เปลือกได้เช่นกัน ซึ่งงานวิจัยที่น่าศึกษาต่อไป หรือใช้ภูมิปัญญาชาวบ้านโดยนำเปลือกส้มโอมาล้างเปล่าหลายๆครั้งก็สามารถกำจัดความขมปริเวณเปลือกได้ในระดับหนึ่งนอกจากนี้การใช้น้ำตาลยังช่วยในการกลบรสขมได้ เช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกพรรณ ธรรมวัตร. 2550. การ**คัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์นาริงจิเนส และการปรับสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กาญจนารัตน์ ทวีสุข, เบญจมาศ รัตนชินกร และ ลัดดา วัฒนาศิริธรรม. 2547. **การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี/ฟิสิกส์ของส้มโอพันธุ์และอายุต่างๆ ที่ปลูกในประเทศไทย และการศึกษาการกำจัดรสขมเพื่อนำไปแปรรูปเป็นน้ำส้มโอ.** กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร. 43 หน้า

จิรา ณ หนองคาย 2531. เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผัก ผลไม้ และ ดอกไม้. สำนักพิมพ์ แมส พับลิสซิ่ง. กรุงเทพ. 272 น.

ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์, ปราณี อ่านเปรื่อง และสุหร่าย สายศร. 2540 (ก). การลดความขมจากลิโมนินในน้ำส้มเขียวหวานโดยเปลือกไข่. **ว. อาหาร.** 27 (1) : 26-33.

ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์, ปราณี อ่านเปรื่อง และสุหร่าย สายศร. 2540 (ข) การลดรสขมและรสเปรี้ยวในน้ำส้มเขียวหวานโดยใช้เปลือกไข่. **ว. อาหาร.** 27 (3): 175-191.

สุวรรณา พิชัยยงค์วงศ์ดี และ ระติพร หาเรือนกิจ.2544. **การศึกษาปริมาณสารให้ความขมในมะนาวและผลของเอธิลีนต่อความขม.** ว. พระจอมเกล้าลาดกระบัง 9(3) : 39-44

สุชาดา ไชยสวัสดิ์, วลัยพร เอี่ยมภาษิต, นาตรถยา ชมนารถ และ สรเสกข์ กุลมัย. 2540. การลดความขมของน้ำมะนาวโดยใช้วัตถุเจือปน. **เสนอต่อที่ประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 23 (วทท 23).**

อุมาภรณ์ สุจริตทวีสุข, เบญจมาส รัตนชินกร และ อนุวัตร แจ้งชัด. 2546. การลดความขมในน้ำส้มโอ. **ว. วิทยาศาสตร์เกษตร.** 34 4-6 (พิเศษ): 100-103.

Albach, R.F., G.H. Redman and B.J. Lime. 1981. Limonim Content of Juice from Marrs and Hamlin Oranges. **J. Agric. Food Chem.** 29: 313-315.

AOAC.1999. **Official Methods of Analysis.**16th Ed, 5th Reversion, The Association of Official Analytical Chemical. International, Gaithersburg, MD, method 942.15, 967.21, 964.24, and 936.16.

Barmore, C.R., J.F. Fisher, P.J. Fellers and R.L. Rouseff. 1986. Reduction of bitterness and tartness in grapefruit juice with Florisil. **J. Food Sci.** 51(2): 415-417.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cecilia, A.M. and L.M. Richard. 1983. Distribution of limonin during the growth the growth and development of leaves and branches of *Citrus paradis*. **J Agric. Food Chem.** 31: 319-325

Chandler, B.V., J. F. Keffordand and G. Ziemelis. 1968. Removal of limonin from bitter orange juice. **J. Sci. Food Agric**. 19 (2) : 83-86.

Chandler, B.V. and R.L. Johnson. 1977. Cellulose acetate as a selective sorbent for limonin in orange juice. **J. Sci. Food Agric**. 28: 875-884.

Chandler, B.V. 1979. New sorbent gel forms of cellulose esters for debittering citrus juice. **J. Sci. Food Agric**. 30: 825-832.

Department of agriculture. 2002. **Good agricultural practice (GAP) for pummelo.** Bangkok, the agricultural Co-operative federation of Thailand, Ltd. 26 p.

Geocities. 2009. **Psplant/pomo.** Available at: http://www.geocities.com/psplant/pomo09. Last accessed January 09, 2009Gionfriddo, F., E. Postorino and F. Bovalo. 1996. I flavanoni glucosidici nel succo di bergamotto. **Essenze-Deriv. Agrum**. 66**:** 404–416.

Guadagni, D.G., V.P. Maier and J.H. Turnbaugh. 1973. Effects of some citrus constituents on taste thresholds for limonin and naringin bitterness. **J. Sci. Food Agric**. 24: 1277-1288.

Horowitz, R.M and B. Gentili. 1977. Flavonoids constituents of citrus, pp. 397–426. *In* S. Nagy, P.E. Shaw and M.K. Vedhuis (eds.). **Citrus science and technology.** Westport, CT: AVI Publishing company, Inc. USA.

Johnson, R.L. and B.V. Chandler. 1988. Adsorptive removal of bitter principles and titratable acid from citrus juice. **Food Tech.** 43(2):130-137.

Jungsakulruijirek, S. 1997. **Limonin in Thai Tangerine (Citrus reticulata, Blanco) in Relation to Reduction of Juices Btterness**. Ph.D. thesis, Asian Institute of Tecnology, Bangkok.

Kasemsuksakul, N. 1989. Effect of Fruit Maturity, Storage and Processing on Bitterness and Quality of Tangerine Juice. B.Sc.thesis, Asian Institute of Tecnology, Bangkok

Kimball, D.A. 1999. Analyses of Brix, Soluble Solid, Acid, Oils, and Pulp, pp. 191-246. *In* Citrus Processing: a complete guide. 2nd ed. Publish, Inc., Permission Department, Gaithersburg, Maryland.

Kimball, D.A. and S.I. Norman 1990. Change in California novel orange juices during commercial debittering. **J. Food Sci.** 55 (1): 273 -274

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ladaniya, M. 2009. **Citrus fruit Biology, Technology and Evaluation**. Principal Scientist, ICAR, India. 558 p.

Maier, V. P., L. C. Brewster and A.C. Hsu. 1973. Ethylene-accelerated limonoid metabolism in citrus fruits : Process for reducing juice bitterness. **J. Agric. Food Chem.** 21 (3) : 490–495.

Maier, V.P., L. C. Brewster and A.C. Hsu. 1971. Development of Methods for Producting Non-Bitter Navel Orange Juice. **Citograph.** 56: 373-375.

Maier, V.P., R.D. Bennett and S. Hasegwa. 1977. Limonin and other limonoids, pp.355-396. In S. Nagy, P.E. Shaw and M.K. Veldius (eds.). **Citrus Science and Technology**: Vol 1. The AVI Publishing Company, Inc.USA.

Maier, V.P., S. Hasegawa, R.D. Bennett and L.C. Echols . 1980. Limonin and limonoids: chemistry, biochemistry, and juice bitterness . pp 63-82. *In* S. Nagy and J.A. (ed.) Attaway. **Citrus nutrition and quality**. Washington,D.C: American Chemical Society.

McIntosh, C.A., R.L. Mansell and R.L. Rouseff. 1982. Distribution of limonin in the fruit tissue of nine grapefruit cultivar. **J. Agric Food Chem.** 30: 689-692.

Ohta, H. and S. Hasegawa. 1995. Limonoids in pummelos [Citrus grandis (L.) Osbeck]. **J. Food Sci.** 60(6) : 1284-1285

Peterson, J.J., J.T. Dwyer, G.R. Beecher, S.A. Bhagwat, S.E. Gebhardt, D.B. Haytowitz and J.M. Holden. 2006. Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. **J. Food Comp. Anal.** 19: S66-S73.

Peterson, J.J., G.R. Beecher, S.A. Bhagwat, J.T.Dwyer, S.E. Gebhardt, D.B. Haytowitz and J.M. Holden. 2006. Flavanones in grapefruit, lemons, and limes: A compilation and review of the data from the analytical literature. **J. Food Comp. Anal.** 19: S74–S80.

Pichaiyongvongdee, P. and R. Haruenkit. 2009. Comparative Studies of Limonin and Naringin Distribution in Different Parts of Pummelo [Citrus grandis (L.) Osbeck] Cultivars Grown in Thailand. **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 43 : 28 - 36 .

Rouseff, R.L. 1988. Liquid chromatographic determination of naringin and neohesperidin as a detection of grapefruit juice in orange juice **J. Assoc. Off. Anal. Chem.** 71(4) : 798 -802.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sakamoto, K., A. Inoue and M. Iyama. 1985. Effect of high temperature storage on the contents of limonin and nomilin in navel orange and hassaku. **Bull. Hiroshima Pref. Food Technol. Res. Cen.** 17: 41-44

Shaw, P.E. and Wilson, C.W. 1984. A rapid method for determination of limonin in citrus juices by high performance liquid chromatography. **J. Food Sci.** 49(4):1216- 1218

Shaw, P.E., J.H. Tatum and C.W. Wilson. 1984. Improved flavor of navel orange and grapefruit juice by remove of bitter component with beta-cyclodextrin polymer. **J. Agric. Food Chem.**32: 832-836.

Stewart, I. 1980. Color as related to quality in citrus, pp.129-150. *In* S. Nagy and J.A. (ed.) Attaway. **Citrus nutrition and quality**. Washington,D.C: American Chemical Society.

Ting, S.V. and R. L. Rouseff. 1986. Morphology and physiology. pp 1-6. *In* **Citrus fruits and their products : analysis and technology**. New York : Marcel Dekker.

Vanamala, J., L. Reddivari, K.S. Yoo, L.M. Pike and B.S. Patil. 2006. Variation in the content of bioactive flavonoids in different brands of orange and greapefruit juices. **J. Food Comp. Anal.** 19(2-3): 157-166.

Wang, Y.C., Y.C. Chuang and Y.H. Ku. 2007. Quantitation of bioactive compound in citrus fruits cultivated in Taiwan. **Food Chem.** 102(4) : 1163-1171.

Wagner, C. J., C.W. Wilson and P.E. Shaw. 1988. Reduction of grapefruit bitter component in a fluidized P-cyclodextrin polymer bed. **J. Food Sci.** 53: 516-518.

Wikipedia (2009) ***Citrus maxima*** Available at; http://th.wikipedia.org August 9, 2009.

Xu, G., D. Liu, J. Chen, X.Ye, Y. Ma and J. Shi. 2008. Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in Chine. **Food Chem**. 106(2): 545-551.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก. Limonin and Nomilin by HPLC

(Shaw and Wilson, 1984)

I. Equipment

Water HPLC (USA) system with two hydraulic pumps (model 515), an injection system (U6K), a Novapak C_{18} Column (3.9 x 150 mm, pore size 4 μm), a C_{18} guard column, a UV-VIS detector (model 2478), and a computerized recorder/integrator (model Millennium 32).

II. Glasswares

- Millipore C18 Sep-pak (Solid Phase Extraction) cartridge
- 0.22 μm nylon filter
- 50 μl syringe
- 10 mL syringe
- 16 × 150 mm test tube
- LC vial

III. Chemicals

Standard of limonin and nomilin, acetonitrile, and methanol

IV. Reagents

A. Mobile phase solution: Mix 65% deionized water: 35% of acetonitrile. Make 3-4 days in advance to allow for equilibrium.

B. Limonin standard solutions: Prepare a stock solution of 50 mg/L by dissolve 5 mg of limonin in 2 mL of acetonitrile in a volumetric flask and make to 10 mL with methanol. Prepare standard solutions weekly by diluting the stock solution to 2.5, 5, 10, 15, 25 and 30 mg/L with the mobile phase.

C. Nomilin standard solutions: as prepare as limonin standard solutions (20, 40, 60, 80, and 100 mg/L)

V. Procedure

1. Heat juice sample of about 60 mL in boiling water bath for 10 min to develop limonin. (Heating is not needed for concentrate and pasteurized juice samples).

2. Centrifuge 25 mL of the juice at 2500 ×g for 10 min.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Precondition C18 cartridges by use the Millipore C18 Sep-pak cartridge was rinsed with 2 mL of methanol, followed by 5 mL of HPLC grade water under vacuum until all water just enters the C18 bed.

4. Load 1.0 of juice supernatant on the preconditioned C18 cartridge. For samples with low limonin content, increase load volume accordingly.

5. The juice supernatant was filtered under vacuum or pressure very slowly

6. Rinse cartridges with 5 mL of HPLC grade water and free the C18 bed of water.

7. Slowly elute limonin/nomilin from the cartridge with 1.0 mL of methanol.

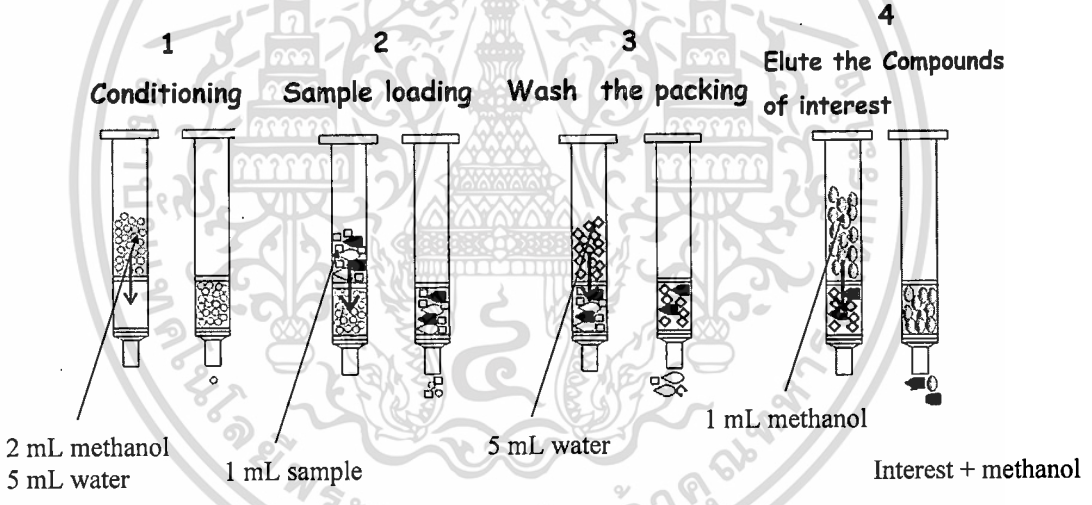
8. Methanol effluent was filtered through a 0.22 μm nylon filter and into a LC vial.

9. Set the HPLC system at:

Flow rate = 1.0 mL/min

Detection wavelength = 210 nm

10. Make duplicate 20 μl-injections for each standard and filtrated sample.



รูปที่ ก-1 Process of the Millipore C18 Sep-pak (Solid Phase Extraction) cartridge.

VI. Calculations

Limonin and nomilin are identified by comparison of retention time with a standard. Limonin / Nomilim Concentration (mg/L) is calculated from sample absorbance based on a linear regression equation of the standard curve of absorbance peak area (PA) against concentration of limoninnomilim standards.

- Linear regression for limonin/nomilim standards

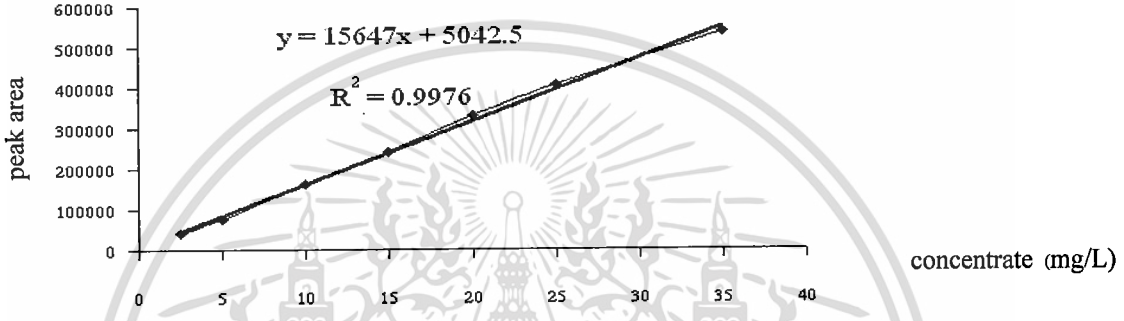
PA Standard = a + b × Concentration Standard (mg/L)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

VII. Standard curve of limonin

ตารางที่ ก-1 The concentration of limonin standards and absorbance peak area (PA).

Concentrate (mg/L)	U.V at 510 nm		Average
	AREA 1	AREA 1	
2.5	41385	41526	41456
5	75332	77982	76657
10	160958	161289	161124
15	235698	245346	240522
20	330136	329966	330051
25	404964	407485	406225
35	545980	533182	539581

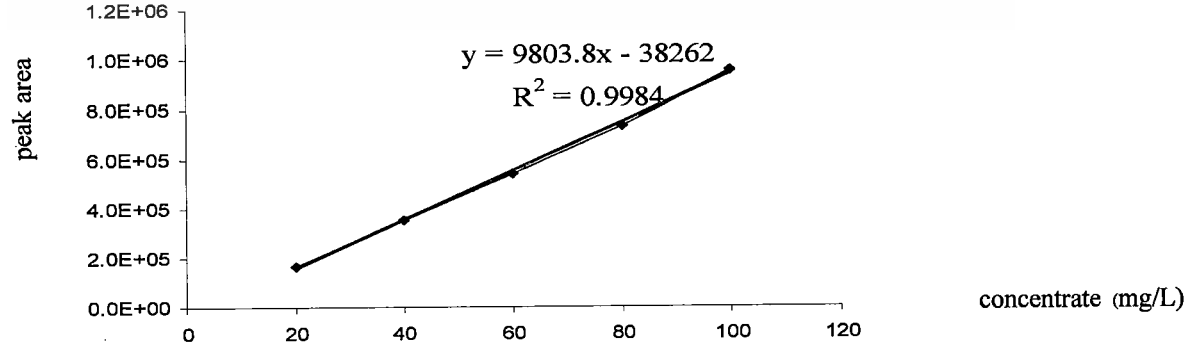


รูปที่ ก-1 Standard curve of limonin.

VIII. Standard curve of nomilin

ตารางที่ ก-2 The concentration of nomilin standards and absorbance peak area (PA)

Concentration of standard (mg/L)	U.V at 510 nm		Average
	AREA 1	AREA 1	
20	166710	167034	166872
40	351344	353815	352579
60	538322	543251	540786
80	731833	732410	732122
100	958340	958630	957485



รูปที่ ก-2 Standard curve of nomilin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข. Flavanones by HPLC

(Rouseff R.L., 1988)

I. Equipment

Water HPLC (USA) system with two hydraulic pumps (model 515), an injection system (U6K), a Novapak C_{18} Column (3.9 x 150 mm, pore size 4 µm), a C_{18} guard column, a UV-VIS detector (model 2478), and a computerized recorder/integrator (model Millennium 32).

II. Glasswares

- 0.22 µm nylon filter - 50 µl syringe - 10 mL syringe
- 16 × 150 mm test tube - LC vial

III. Chemicals

- Standard of naringin , eriocitrin, neoeriocitrin,
- Acetonitril and methanol

IV. Reagents

A. Mobile phase solution was prepare with the acetonitrile (ACN): deionized (DI) water: 25% ACN: 75% DI water for determination naringin

15% ACN: 85% (1% acetic acid in DI water) for determination eriocitrin and neoeriocitrin

(Prepare the mobile phase 3-4 days in advance to allow for equilibrium or degass with vacuum)

B. Naringin standard solutions: Dissolve 100 mg of naringin in 100 mL of methanol in a volumetric flask to make a 1000 mg/L stock solution. Prepare weekly standard solutions by diluting the stock solution to 20, 50, 100, 200, 300, 400, and 500 mg/L

C. Eriocitrin standard solutions: 5, 7.5, 10, 12.5, and 15 mg/L

D. Neoeriocitrin standard solutions: 0.25, 0.5, 1, 1.5, and 2 mg/L

V. Procedure

1. Centrifuge approximately 10 mL of juice sample at 2500 ×*g* for 10 min.
2. Dilute 1 mL of supernatant with 9 mL of HPLC grade water and mix thoroughly.
3. Sample was filtered through a 0.22 µm nylon filter and into a LC vial.
4. Set the HPLC system at: flow rate = 1.0 mL/min, detection wavelength = 280 nm
5. Equilibrate system with mobile phase for at least 30 min.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. Make duplicate 20 µl-injections for each standard and juice sample.

7. After using, bring system solvent back to acetonitrile.

VI. Calculations

Flavanones were identified by comparison of retention time with a standard. Concentration (mg/L) of flavanones in sample was calculated from sample absorbance based on a linear regression equation of the standard curve of absorbance peak area (PA) at 280 nm against concentration of flavanones standards.

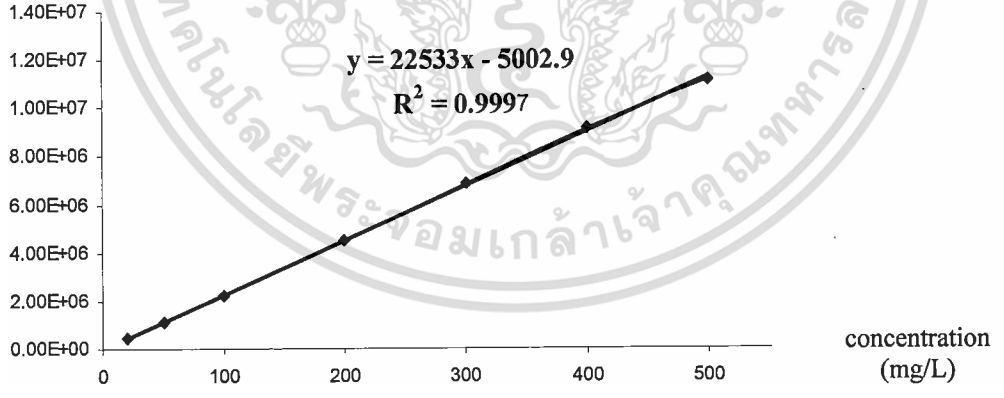
-Linear regression of flavanones standards

PA Standard = a + b × concentration standard (mg/L)

VII. Standard Curve of flavanones

ตารางที่ ข-1 The concentration of naringin standards and absorbance peak area (PA)

Concentrate (mg/L)	U.V at 580 nm		Average
	AREA 1	AREA 2	
20	408595	413137	410866
50	1112034	1096566	1104300
100	2275249	2199206	2237228
200	4472038	4574967	4523503
300	6837110	6795793	6816452
400	9096717	9119684	9108201
500	10897362	11384433	11140898

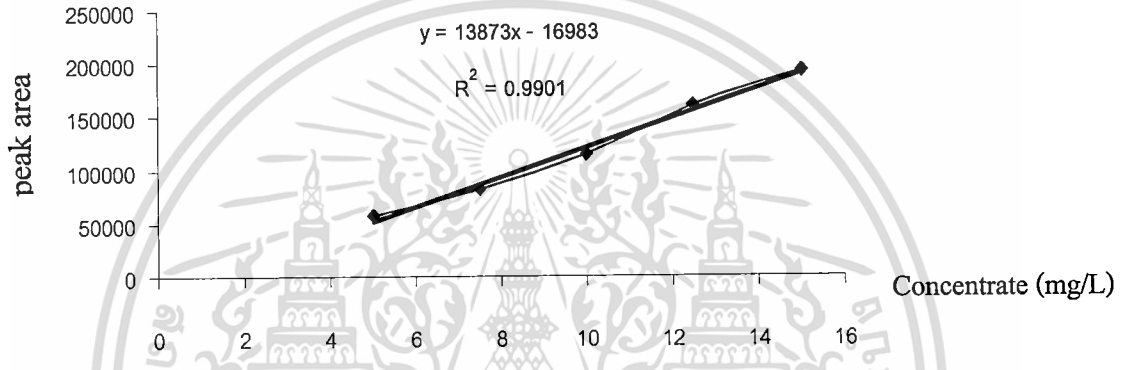


รูปที่ ข-1 Standard curve of naringin

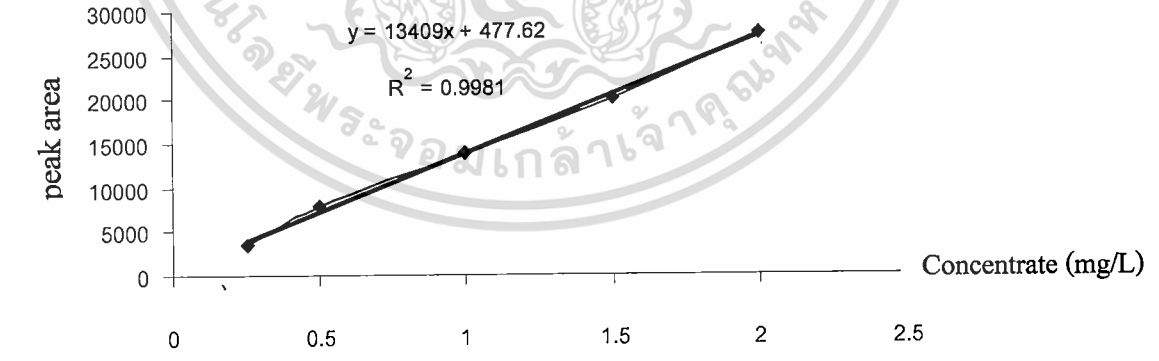
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-2 The concentration of eriocitrin and neoeriocitrin standards and absorbance peak area (PA).

Eriocitrin		Neoeriocitrin	
Concentrate (mg/L)	**Average area**	**Concentrate (mg/L)**	**Average area**
5	57989	0.25	3472
7.5	82971	0.5	7746
10	114538	1	13886
12.5	160720	1.5	20154
15	192530	2	27528



รูปที่ ข-2 Standard curve of eriocitrin



รูปที่ ข-3 Standard curve of neoeriocitrin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. Sensory analysis of pummelo juices

ตารางที่ ค-1 Table questionnaire for scoring test.

Questionnaire for scoring test/difference test

Name.....**Date**.....
Product: Pummelo juices

Instruction:

Taste the pummelo juices from left to right and evaluate the bitterness of pummelo juices. Indicate rate pummelo juice on the following scale.

Code of product

Characteristic	130	065	171	593	345
Not bitter	.....	.....	.....	.....	.....
Trace of bitterness	.....	.....	.....	.....	.....
Slightly bitterness	.....	.....	.....	.....	.....
Bitter	.....	.....	.....	.....	.....
Very bitter	.....	.....	.....	.....	.....
Extremely bitter	.....	.....	.....	.....	.....

Thanks so much for your kind corporation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้