การกำจัดรสขมในน้ำผลไม้จากพืชตระกูลส้ม

อรพิน ชัยประสพ
สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บทนำ

พืชตระกูลส้ม (citrus fruit) เป็นผลไม้ที่มีความสำคัญ ปลูกได้ตลอดปี และเป็นที่นิยมบริโภคกันมาก มีสีที่ดึงดูดใจ กลิ่นรสพิเศษเฉพาะตัว และที่สำคัญคือเป็นแหล่งของวิตามินซี แต่ปัญหาสำคัญของอุตสาหกรรมส้ม คือ รสขมที่เกิดขึ้นในน้ำส้มและผลิตภัณฑ์จากส้ม ซึ่งมีสาเหตุมาจากสารประกอบลิโมนิน (limonin) และนาริงจิ้น (naringin) น้ำส้มคั้นใหม่ ๆ ไม่มีรสขม แต่ถ้าทิ้งไว้นาน ๆ หรือได้รับความร้อนจะเกิดรสขมขึ้นทันที รสขมเพียงเล็กน้อยเป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อกลิ่นรสในน้ำส้ม แต่ถ้ามีมากเกินไปย่อมไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค นักวิทยาศาสตร์หลาย ๆ ท่าน ได้พยายามหาวิธีกำจัดรสขมในส้มทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว เช่น การใช้อนุพันธ์ของไตรเอทิลอะมีน (triethylamine derivative) ฉีดพ่นให้ต้นพืชก่อนการเก็บเกี่ยวเพื่อลดการสร้างสารให้รสขม แต่ก็ไม่ค่อยจะได้ผลนัก จึงมีการพยายามลดรสขมในพืชตระกูลส้มหลังการเก็บเกี่ยวโดยวิธีการต่าง ๆ เช่น การสกัดด้วยสารเคมี การใช้เอนไซม์และจุลินทรีย์ และการใช้ตัวดูดซับ (adsorbent) ชนิดต่าง ๆ วิธีการเหล่านี้แม้จะสามารถลดรสขม แต่บางวิธีก็ยุ่งยาก ค่าใช้จ่ายสูง มีการปนเปื้อนของสารเคมี เกิดสารพิษ และอาจทำให้องค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางกายภาพของน้ำส้มเปลี่ยนแปลงไป สำหรับรายละเอียดของวิธีการเหล่านี้จะได้กล่าวในหัวข้อต่อ ๆ ไป

สาเหตุของรสขมในพืชตระกูลส้ม

ผลไม้ที่จัดอยู่ในพืชตระกูลส้มได้แก่ ส้มพันธุ์ต่าง ๆ [พันธุ์เนเวล (navel orange) พันธุ์วาเลนเซีย (valencia orange) พันธุ์แมนดาริน (mandarin) พันธุ์นัตซีไดได (natsudaidai)] เกรฟฟรุท (grape fruit) เลมอน (lemon) มะนาว (lime) และส้มโอ (pummelo)

ผลไม้จากพืชตระกูลส้มเหล่านี้มีสารให้รสขมเป็นองค์ประกอบอยู่ตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นสารประกอบ 2 ชนิด คือ สารประกอบฟาโวนอยด์ (flavonoid) และสารประกอบลิโมนอยด์ (limonoid)

อรพิน ชัยประสพ. "การกำจัดรสขมในน้ำผลไม้จากพืชตระกูลส้ม" *อาหาร* 21, 2 (เม.ย-มิ.ย. 2534) 87-93

นาริงจิ้น เป็นสารประกอบฟาโวนอยด์ หลักที่ให้รสขม มีอยู่มากที่สุดในส่วนเปลือกชั้นใน (albedo) รองลงมาคือในส่วนกุ้ง (juice sac) ซึ่งมีลักษณะเป็นถุงเล็ก ๆ อัดแน่นอยู่ภายในผนังกลีบส้ม (segment membrane)

สารประกอบลิโมนอยด์ เป็นอนุพันธ์ของไตรเทอร์ปีน (triterpene derivative) ที่พบในพืชตระกูลส้ม มีทั้งหมด 29 ชนิด แต่มีเพียง 4 ชนิดเท่านั้นที่ให้รสขม คือ ลิโมนิน (limonin) โนมิลิน (nomillin) อิแชนจิน (ichangin) และกรดโนมิลินิค (nomilinic acid) แต่เฉพาะลิโมนินและโนมิลินเท่านั้นที่มีบทบาทในการให้รสขม ส่วนอิแชนจิน และกรดโนมิลินิคนั้นมีอยู่ในปริมาณที่น้อยมาก

ลิโมนินพบมากในส่วนเปลือกชั้นใน โดยจะอยู่ในรูปลิโมโนเอท เอ- ริง แลคโตน (limonoate A-ring lactone) ซึ่งเป็นสารตั้งต้น (precursor) ของลิโมนินที่ไม่มีรสขม (Maier และ Beverly, 1968) แต่จะเปลี่ยนไปเป็นลิโมนินเมื่อถูกกระตุ้นด้วยความร้อน และเอนไซม์ลิโมโนเอท ดี - ริง แลคโตน ไฮโดรเลส (limonoate D-ring lactone hydrolase) (Hasegawa และคณะ, 1983) ซึ่งมีอยู่ในเนื้อเยื่อส้ม

โนมิลิน พบครั้งแรกโดยสกัดจากเมล็ดส้ม และเมล็ดเลมอน ให้รสขมเป็นสองเท่าของลิโมนิน พบมากในส่วนเปลือก (peel) และผนังของกลีบส้ม

สารให้รสขม ส่วนใหญ่จะอยู่ตามเปลือกชั้นใน ผนังกลีบส้ม และเมล็ด ดังนั้นถ้าปอกเปลือกส้มด้วยมือ สารให้รสขมส่วนใหญ่จะถูกขจัดออกไปกับเปลือก แต่ช้าและสิ้นเปลืองแรงงาน การผลิตในระดับอุตสาหกรรมมักใช้วิธีปอกเปลือกโดยใช้สารละลายด่าง ใช้เครื่องบีบ ซึ่งวิธีการเหล่านี้จะได้น้ำส้มที่มีรสขม โดยปกติถ้าในน้ำส้มมี นาริงจิ้น 700 ส่วนในล้านส่วน (ppm) และลิโมนิน 8- 12 ส่วนในล้านส่วน จะให้รสขมที่ผู้บริโภครู้สึกได้ (Chandler, 1968)

การกำจัดรสขม

การใช้จุลินทรีย์และเอนไซม์

การใช้จุลินทรีย์และเอนไซม์ กำจัดรสขมในน้ำส้มสามารถทำได้ 2 ทาง คือ

1. การใช้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบในน้ำส้ม ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของน้ำส้ม เกิดการตกตะกอนของสารให้รสขม ดังเช่น น้ำตาล และเพคตินเป็นองค์ประกอบในน้ำส้มที่มีอิทธิพลต่อการละลายและตกผลึกของลิโมนิน เมื่อใช้เอนไซม์เพคติเนส (pectinase) ไปย่อยสารประกอบเพคตินในน้ำส้มทำให้สารที่แขวนลอยอยู่ตกตะกอนและดึงเอาสารให้รสขมตกตะกอนลงมาด้วย (Hasegawa, 1983; Maier, 1977)

2. การใช้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยากับสารให้รสขมที่มีอยู่ในน้ำส้มแล้วเปลี่ยนเป็นสารที่ไม่ให้รสขมหรือรสขมน้อยลง แต่ดังที่

ทราบกันแล้วว่า สารที่ให้รสขมในส้ม มีอยู่หลายตัว และเอนไซม์มีความจำเพาะกับสับสเตรท (substrate) ดังนั้นการใช้เอนไซม์ เพื่อกำจัดรสขมจึงมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องหลายตัว ดังต่อไปนี้

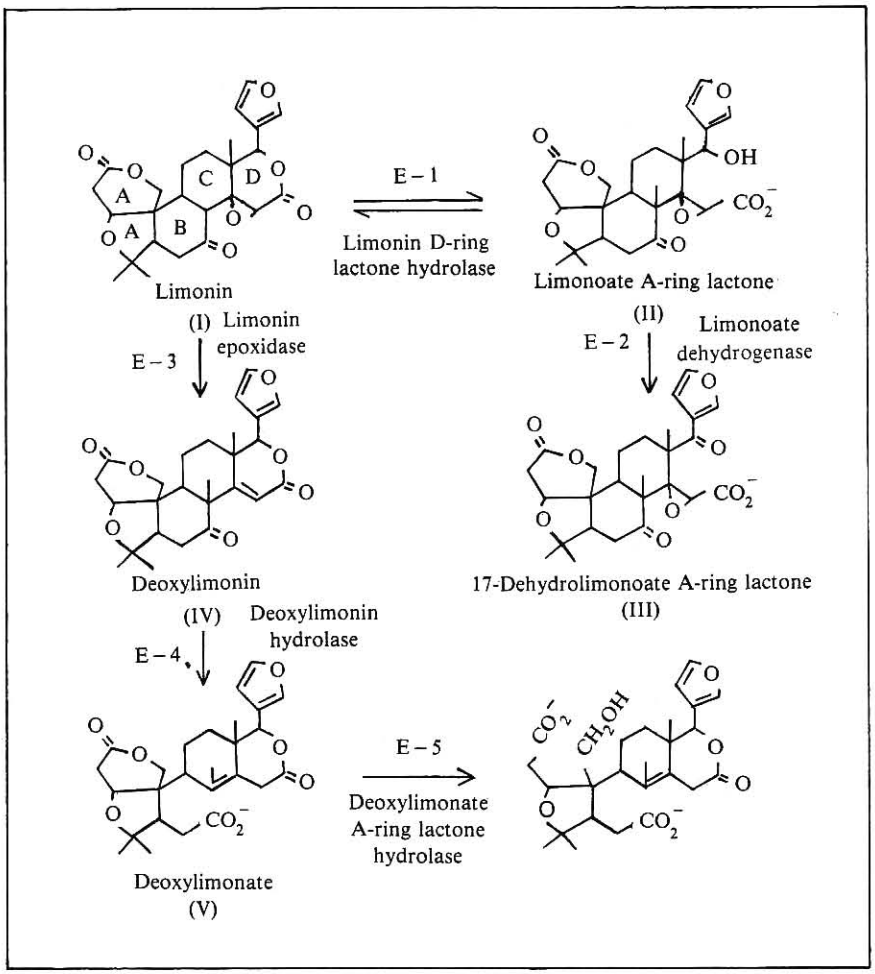
2.1 เอนไซม์ที่ใช้กำจัดรสขม อันเนื่องมาจากนาริงจิ้น

Hasegawa (1983) พบว่า เอนไซม์นาริงจิเนส จากเชื้อรา (fungal naringinase) เป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วย อัลฟา- แรมโนซิเดส (α-rhamnosidase) และเบต้า- กลูโคซิเดส (β-glucosidase) ที่อุณหภูมิ 4°ซ. สามารถไฮโดรไลซ์ (hydrolyse) นาริงจิ้นเป็นพรูนิน (prunin) ซึ่งมีรสขมเล็กน้อย แต่ถ้าเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นถึง 50°ซ. การไฮโดรไลซ์ เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ นาริงจิ้นจะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบพวกไกลโคน (glycone) และนาริงจินิน (naringenin) ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีรสขม

2.2 เอนไซม์ที่ใช้กำจัดรสขมอันเนื่องมาจากสารประกอบลิโมนอยด์

ลิโมนินเป็นสารประกอบลิโมนอยด์ที่ให้รสขมในพืชตระกูลส้ม โดยธรรมชาติจะถูกสร้างขึ้นในรูปลิโมโนเอท เอ- ริง แลคโตน ซึ่งไม่มีรสขม แต่จะเปลี่ยนไปเป็นลิโมนิน ซึ่งให้รสขมเมื่อความเป็นกรด- ด่างเปลี่ยนแปลง ได้รับความร้อน ถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ ดังนั้น การกำจัดรสขมสามารถกระทำได้ 2 ทาง คือ

2.2.1 การป้องกันไม่ให้ลิโมโนเอท เอ- ริง แลคโตน เปลี่ยนเป็น ลิโมนิน โดยเปลี่ยนให้เป็น 17- ดีไฮโดรลิโมโนเอท เอ- ริง แลคโตน (17-dehydrolimonoate A-ring lactone) ซึ่งมีจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องคือ เอนไซม์ลิโมนิน ดี - ริง แลคโตน ไอโดรเลส อี1 (limonin D-ring lactone hydrolase, E1) พบครั้งแรกในพืชตระกูลส้ม ต่อมาพบในเชื้อจุลินทรีย์ *Pseudomonas 321-18* และ *Arthrobacter globiformis* เอนไซม์ตัวนี้สามารถใช้สารลิโมนอยด์เป็นสับสเตรทได้หลายตัวทำให้เกิดได้ทั้งปฏิกิริยา แลคโตไนเซชั่น (lactonization) และปฏิกิริยาไฮโดรไลเซชั่น (hydrolization) โดยมี pH ที่เหมาะสม (optimum pH) แตกต่างกัน คือ ที่ pH 6.0 จะเกิดปฏิกิริยาแลคโตไนเซชั่น เอนไซม์ใช้ลิโมโนเอท เอ- ริง แลคโตน เป็นสับสเตรท เปลี่ยนไปเป็นลิโมนิน และที่ pH 8.0 จะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลเซชั่น ลิโมนินถูกใช้เป็นสับสเตรท ได้ลิโมโนเอท เอ- ริง แลคโตน ดังนั้น การควบคุมปฏิกิริยาของเอนไซม์มีผลต่อปริมาณลิโมนิน เนื่องจากเป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ ฉะนั้นถ้าลิโมโนเอท เอ- ริง แลคโตนถูกเปลี่ยนไปเป็นสารอื่นที่ไม่ใช่ลิโมนิน เช่น เปลี่ยนเป็น 17- ดีไฮโดรลิโมโนเอท เอ- ริง แลคโตน โดยมีเอนไซม์ลิโมโนเอท ดีไฮโดรจีเนส อี2 (limonoate dehydrogenase, E2) เป็นตัวเร่งก็จะสามารถป้องกันไม่ให้ลิโมโนเอท เอ- ริง แลคโตน เปลี่ยนไปเป็นลิโมนินได้อีก ดังภาพที่ 1 (Maier และคณะ 1969)



รูปที่ 1 *วิถีทางในการเมตาโบไลท์สารประกอบลิโมนอยด์*

2.2.2 การเปลี่ยนลิโมนินที่เกิดขึ้นไปเป็นดีออกซีลิโมนิน (deoxylimonin) ดีออกซีลิโมเนท (deoxylimonate) เป็นสารที่ไม่มีรสขม โดยมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องหลายตัวคือ เอนไซม์ลิโมนินอีพ็อกซิเดส อี 3 (limonin epoxidase, E 3) เอนไซม์ดีออกซีลิโมนิน ไฮโดรเลส อี 4 (deoxylimonin hydrolase, E 4) ดีออกซีลิโมเนท เอ- ริง แลคโตน ไฮโดรเลส อี 5 (deoxylimonate A-ring lactone hydrolase, E 5) เอนไซม์ลิโมโนเอท เอ- ริง ทรานสซิลิมิเนส (limonoate A-ring transiliminase)

ข้อจำกัดในการกำจัดรสขมโดยจุลินทรีย์และเอนไซม์

การใช้เอนไซม์กำจัดรสขมในทางการค้าทำได้ยากเพราะสารที่ให้รสขมมีหลายตัวและเอนไซม์มีความจำเพาะต่อสับสเตรท ดังนั้นจำเป็นจะต้องใช้เอนไซม์มากกว่าหนึ่งชนิดในการกำจัดรสขมและเอนไซม์แต่ละชนิดต้องการสภาวะที่เหมาะสมในการทำงาน คือ อุณหภูมิ pH ตัวเร่งการทำงานหรือโคแฟคเตอร์แตกต่างกันออกไป นอกจากนี้ยังมีปัญหาเกี่ยวกับตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในน้ำส้ม ใช้เวลานานในการกำจัดรสขม เสี่ยงต่อการเกิดสารพิษ ค่าใช้จ่ายสูง ควบคุมการทำงานของเอนไซม์ได้ยาก และบางครั้งอาจทำให้ลักษณะปรากฏของน้ำส้ม เช่น ความขุ่นเปลี่ยนแปลง

การใช้ตัวดูดซับ (adsorbent)

การใช้ตัวดูดซับในการกำจัดรสขม หลักการคือ ใช้ตัวดูดซับดูดจับสารให้รสขมในน้ำส้มไว้ทำให้รสขมลดน้อยลงหรือหมดไป นักวิทยาศาสตร์หลาย ๆ ท่าน ได้พยายามใช้ตัวดูดซับชนิดต่าง ๆ ในการกำจัดรสขม ซึ่งให้ผลและมีประสิทธิภาพต่าง ๆ กัน ดังเช่น

โพลีอะไมด์ (polyamide) สามารถกำจัดลิโมนินและนาริงจิ้นในน้ำส้มได้ แต่โพลีอะไมด์มีความจำเพาะในการดูดจับนาริงจิ้นได้ดีกว่าลิโมนิน เนื่องจากฟาวาโนน (flavanone) ส่วนใหญ่ประกอบด้วยกลุ่มฟีนอลิค (phenolic) เกิดแรงดึงดูดกับโพลีอะไมด์ ด้วยพันธะไฮโดรเจนได้ง่าย (Chandler และคณะ 1968; Nisperos และ Robertson, 1982) ดังนั้นในน้ำส้มที่มีทั้งนาริงจิ้นและลิโมนินอยู่ นาริงจิ้นจะถูกดูดจับก่อนเป็นอันดับแรกทำให้เหลือความสามารถในการดูดจับลิโมนินน้อย โพลีอะไมด์นอกจากจะดูดจับสารให้รสขมทั้งสองแล้วยังดูดจับกรดแอสคอบิคทำให้เกิดการสูญเสียถึง 30 เปอร์เซ็นต์

เซลลูโลส อะซิเตท (cellulose acetate) มีความจำเพาะในการดูดจับลิโมนินและมีประสิทธิภาพสูงกว่าโพลีอะไมด์ถึง 3 เท่า และดูดจับกรดแอสคอบิคเพียงเล็กน้อย (Chandler และ Johnson, 1977)

เบต้าไซโคเด็กตรินโพลีเมอร์ (β-cyclo dextrin polymer) สามารถดูดจับนาริงจิ้นและลิโมนินได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีการสูญเสียกรดแอสคอบิค แต่ทำให้ปริมาณน้ำมันส้มลดลง 40 เปอร์เซ็นต์ (Shaw และคณะ, 1984)

Amberlite XAD-2 เป็น non polar polystyrene resin สามารถดูดจับลิโมนินและนาริงจิ้นได้สูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และดูดจับกรดเพียงเล็กน้อย Amberlite XAD-7 ซึ่งเป็นโพลีอะคริลิคเรซิน (polyacrylic resin) ก็มีคุณสมบัติใกล้เคียงกันเว้นแต่สามารถดูดจับลิโมนินได้สูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (Johnson และ Chandler, 1982)

พวก Ion exchange resin เช่น Deacidite-G A378 (weak base resin) และ Amberlite IRA 401 s (strong base resin) จากการทดลองของ Johnson และ Chandler (1985) พบว่าสามารถดูดจับนาริงจิ้นและลิโมนินได้ในช่วง 25- 50% และได้ให้ข้อสรุปไว้ว่าพวก Ion exchange resin ส่วนใหญ่จะดูดจับกรดไว้ถึง 20 เปอร์เซ็นต์

ตัวดูดซับต่าง ๆ ดังที่กล่าวมาแล้วมีประสิทธิภาพและความจำเพาะในการดูดซับนาริงจิ้น ลิโมนิน กรดชนิดต่าง ๆ และองค์-ประกอบอื่น ๆ แตกต่างกัน นักวิทยาศาสตร์ก็ยังไม่สามารถสรุปได้ว่า ประสิทธิภาพของตัวดูดซับที่แตกต่างกันนั้น เป็นผลมาจากพื้นที่ผิว ปริมาณรู (pore) หรือโพลาริตี้ (polarity) ของตัวดูดซับ (Johnson และ Chandler, 1982) แต่จากการศึกษาของนักวิจัยหลาย ๆ ท่าน สามารถให้ข้อสรุปในการเลือกใช้ตัวดูดซับเพื่อกำจัดองค์ประกอบที่ไม่ต้องการในน้ำส้ม ดังนี้ คือ (1) ลิโมนินโดยใช้เซลลูโลส อะซิเตท (2) ลิโมนินและนาริงจิ้น โดย Amberlite XAD-7 และ XAD-2 (3) ลิโมนินและกรดชนิดต่าง ๆ โดย Amberlite IRA-93 และ Amberlite IRA-45 (4) นาริงจิ้นและกรดชนิดต่าง ๆ โดยโพลีอะไมด์ (5) ลิโมนิน นาริงจิ้น และกรดชนิดต่าง ๆ โดย Amberlite IRA-401 s และ Deacidite-G

สำหรับการนำตัวดูดซับมาใช้ในอุตสาห-กรรม ถ้าใช้ในลักษณะโพลีเมอร์ผงบรรจุถุงหรือตาข่ายแล้วนำมาแช่หรือกวนในน้ำส้มอนุภาคละเอียด ๆ ของโพลีเมอร์อาจหลุดมาปะปนกับน้ำส้ม จึงควรเตรียมโพลีเมอร์เป็นเจลในรูปลูกเต๋าหรือรูปกลมแล้วใช้กวนหรือคนในน้ำส้มที่ต้องการกำจัดรสขมแต่ละชุด ถ้าผลิตปริมาณมาก ๆ นิยมบรรจุในคอลัมน์ (column) จำนวนและขนาดของเจลขึ้นกับปริมาณสารที่ต้องการกำจัดที่มีอยู่ในน้ำส้มและอัตราการไหลของน้ำส้ม โพลีเมอร์ที่ใช้แล้วสามารถนำกลับมาใช้ใหม่โดยล้างด้วยสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (Shaw และคณะ, 1984) หรือล้างด้วยน้ำอุ่นอุณหภูมิ 60- 65°ซ. ไม่ควรใช้อุณหภูมิสูงเพราะความร้อนทำให้เกิดการหดตัวของโพลีเมอร์ ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพลดลง (Johnson, 1981)

ข้อได้เปรียบในการใช้ตัวดูดซับกำจัดรสขม

การใช้ตัวดูดซับสามารถกำจัดนาริงจิ้น ลิโมนิน และกรดที่มากเกินไปออกในเวลาเดียวกัน โดยใช้สภาวะการผลิตธรรมดา ไม่ต้องควบคุมอุณหภูมิหรือปรับความเป็นกรด- ด่าง ดังเช่น การกำจัดรสขมโดยจุลินทรีย์และเอนไซม์ จึงไม่มีการปนเปื้อนของสารเคมีองค์ประกอบของน้ำส้มไม่เปลี่ยนแปลง วิธีการไม่ยุ่งยาก ใช้เวลาน้อย ต้นทุนต่ำเนื่องจากโพลีเมอร์สามารถใช้ซ้ำแล้วซ้ำอีก สารให้รสขมที่กำจัดออกสามารถขายให้อุตสาหกรรมเครื่องดื่มอื่นที่ต้องการรสขม เช่น เบียร์

บรรณานุกรม

Chandler, B.V., Kefford, J.F. and Ziemelis, G. 1968. Removal of limonin from bitter orange juice. J. Sci. Food Agric. 19, 83-86

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

Hasegawa, S. and Maier, V.P. 1983. Solutions to the limonin bitterness problem of citrus juices. Food Tech. 37(6), 73-77

Johnson, R.L. 1981. The reactivation of (Exhausted) cellulose acetate gel beads used commercially for debittering orange juice. J. Sci. Food Agric. 32, 608-612

Johnson, R.L. and Chandler, B.V. 1982. Reduction ot bitterness and acidity in grapefruit juice by adsorptive process. J. Sci. Food Agric. 33, 287-293

Johnson, R.L. and Chandler, B.V. 1985. Ion Exchange and Adsorbent Resins for Removal of acid and bitter principle from citrus juices. J. Sci. Food Agric. 36, 480-484

Maier, V.P. and Beverly, G.D. 1968. Limonin monolactone, the nonbitter precursor responsible for delayed bitterness in certain citrus juice. J. of Food. Sci. 33, 488-492.

Maier, V.P., Hasegawa, S. and Hera, E. 1969. Limonin D-ring lactone hydrolase. A new enzyme from citrus seeds. Phytochemistry 8, 405-407

Niperos, M.O. and Robertson, G.L. 1982. Removal of naringin and limonin from grapefruit juice using polyvinyl pyrrolidone. Phillippine Agriculturist 65 (3) 275-282

Shaw, P.E., Tatum, J.H. and Wilson, C.W. 1984. Improved flavor of Navel orange and grapefruit juice by removal of bitter components with β-cyclodextrin polymer. J. Agric. Food Chem 32, 832-836

★