บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

ในงานวิจัยนี้ได้เลือกวัตถุดิบตัวอย่างในการทดลองผลิตหัวเชื้อน้ำมะขาม คือมะขามหวานพันธุ์สีทอง และเอนไซม์ทางการค้า 2 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์เพคติเนส และ เซลลูเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีจำหน่ายแพร่หลายสำหรับอุตสาหกรรมน้ำผลไม้ ดังนั้นเพื่อให้ข้อมูลต่อเนื่องจนไปสู่การทดลอง จึงนำเสนอรายงานการค้นคว้าเป็นลำดับ ตั้งแต่ข้อมูลวัตถุดิบ ไปจนถึงรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้อง อันเป็นมูลฐานสำคัญที่ทำให้ผลงานวิจัยนี้ปรากฏออกมา

2.1 มะขามหวาน

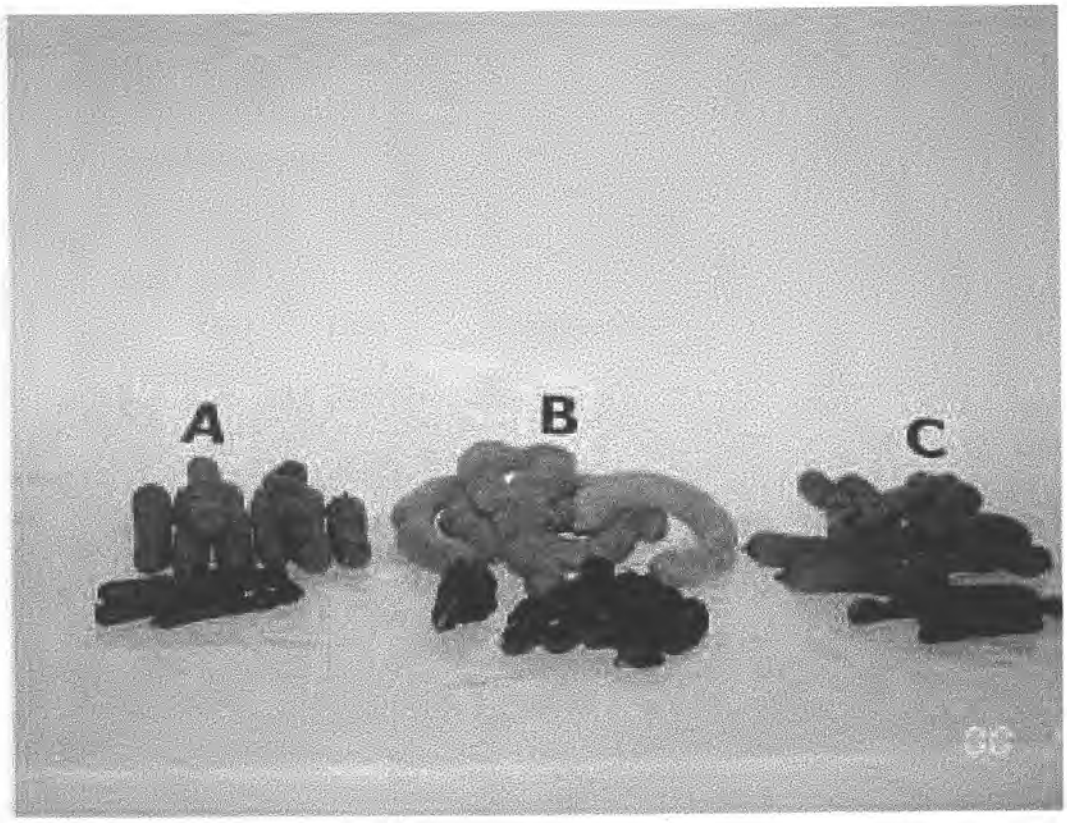
มะขามหวาน (Sweet Tamarind) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Tarmarindus indica L.* จัดอยู่ในพืชตระกูลถั่ว Family Leguminose มะขามหวานเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ฝักมะขามเป็นแบบผลเดี่ยวแต่มีหลายเมล็ด ตั้งแต่ 1-8 เมล็ด หรือขึ้นกับความยาวของฝักแต่ละพันธุ์ ลักษณะของฝักมีทั้งกลม ค่อนข้างกลมและแบน มีเส้นใยที่เรียกว่า รก ทอดไปตามความยาวของฝัก ระบบรากเป็นระบบรากแก้วทนต่อสภาพแห้งแล้ง และน้ำท่วมได้ดีกว่าไม้ผลชนิดอื่น พันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทย แบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท (กองบรรณาธิการบัณฑิตเกษตรก้าวหน้า, 2530) คือ

1. พันธุ์หนัก เป็นพันธุ์ที่ออกผลช้าเพราะมีอายุของวงจรชีวิตนาน เช่น พันธุ์สีทอง เป็นที่ยอมรับว่าเป็นมะขามหวานพันธุ์ที่ดีเยี่ยมที่สุด ฝักมีราคาดีที่สุด ลักษณะฝักมะขามโค้งใหญ่และยาว เนื้อหนาสีเนื้อเหมือนสีทอง มีรสหวานจัด ขนาดของเมล็ดเล็ก และมีน้ำหนักต่อฝักมาก

2. พันธุ์กลาง เป็นพันธุ์ที่กลายจากพันธุ์สีทองแต่ออกผลไม่ค่อยช้าเหมือนสีทอง เช่น พันธุ์ขันตี มีน้ำหนักต่อฝักเบา เนื้อมีสีน้ำตาลเข้มมีรสหวานน้อยกว่าพันธุ์สีทอง

3. พันธุ์เบา เป็นพันธุ์ที่ออกผลเร็วเพราะมีอายุของวงจรชีวิตสั้น เช่น พันธุ์ศรีชมพู เนื้อมะขามมีสีน้ำตาลอ่อน เนื้อแห้งเหนียว มีความแปรปรวนของรสชาติของความหวานมาก มีรสหวานอมเปรี้ยวเพราะมีปริมาณน้ำมากเกินไป

มะขามหวานทั้ง 3 พันธุ์ แสดงได้ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 มะขามหวาน

A = พันธุ์ขันตี

B = พันธุ์สีทอง

C = ศรีชมพู

2.1.1 แหล่งปลูกที่สำคัญและปริมาณการผลิต

มะขามหวาน ปลูกมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ (กรมส่งเสริมเกษตร,2535) เนื่องจากมีภูมิอากาศเหมาะสม กล่าวคือ ในระยะที่มะขามหวานกำลังแก่ใกล้จะเก็บเกี่ยว ซึ่งตรงกับฤดูหนาว มะขามหวานต้องการอากาศแล้งเพื่อช่วยในการแก่ของฝัก จังหวัดที่ปลูกมากเป็นอันดับหนึ่ง คือ จังหวัดเพชรบูรณ์ รองมาคือ จังหวัดเลย ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 พื้นที่การเพาะปลูกมะขามหวานในจังหวัดต่าง ๆ ภายในประเทศไทย (กรมส่งเสริมเกษตร, 2535)

จังหวัดที่ปลูก	พื้นที่ในการเพาะปลูก (ไร่)
1. เพชรบูรณ์	38,769
2. เลย	11,803
3. แพร่	3,841
4. ลำปาง	3,000
5. น่าน	2,939
6. นครราชสีมา	2,487
7. มุกดาหาร	2,365
8. อุบลราชธานี	2,310
9. อุดรธานี	2,292
10. ลพบุรี	1,822
11. ศรีษะเกษ	1,582
12. เชียงราย	1,475

2.1.2 องค์ประกอบของผลมะขามหวาน

Bhattacharya (1994) กล่าวว่าในผลมะขามทั่วไป 100 กรัม จะประกอบด้วยส่วนเปลือกและรก 11.1 กรัม ส่วนเมล็ด 33.9 กรัม และส่วนเนื้อ 55.0 กรัม มะขามจัดเป็นผลไม้ที่มีโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตสูง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของเนื้อมะขาม 54-69.9 องศาบริกซ์ กรดอินทรีย์ส่วนใหญ่ คือ กรดทาร์ทาริก (HOOC-CHOH-CHOH-COOH) (Ulrich, 1970) เช่นเดียวกับ grapefruit, raspberries และ avocados นอกจากนั้นเนื้อมะขามยังอุดมด้วยวิตามินและเกลือแร่ ดังแสดงในตารางที่ 2 แร่ธาตุที่พบมากที่สุด คือ แคลเซียม ส่วนวิตามินที่พบส่วนใหญ่คือ riboflavin, thiamin และ niacin พบวิตามินเอ และซี ค่อนข้างต่ำ Pareek และ Sharma (1993) พบว่า มะขาม, แอปเปิ้ลป่า และ karonda เป็นผลไม้ที่อุดมด้วย เหล็ก และแคลเซียม

ตารางที่ 2 เกลือแร่และวิตามินต่าง ๆ ที่พบในเนื้อมะขามสุก (มก./100กรัม) (Nagaraja , 1975)

องค์ประกอบ	รายงานโดย Leung และ Flores (1961)	รายงานโดย Wenkm และ Miller (1965)
เกลือแร่ :		
แคลเซียม	54.0	113.50
ฟอสฟอรัส	108.0	95.40
เหล็ก	1.0	0.60
วิตามิน :		
วิตามินเอ	20.0[1]	0[2]
ไทอะมิน	0.44	0.154
ไรโบฟลามิน	0.16	0.216
ไนอะซิน	2.1	1.280
กรดแอสคอริค	6.0	Trace

[1]หน่วย ไมโครกรัม

[2] ไม่ได้วิเคราะห์ แต่อ้างอิงจากไม่พบ แคโรทีน ในสารเม็ดสีเหลือง

สารให้กลิ่น (volatile components) จากการศึกษาของ Lee และ คณะ (1975) โดยใช้ gas chromatography และ mass spectroscopy พบว่าสารให้กลิ่นในเนื้อมะขามสุกมีประมาณทั้งสิ้น 61 ชนิด แต่ที่มีความสำคัญ แสดงดังตารางที่ 3 สารให้กลิ่นที่มีบทบาทมากที่สุด คือ 2- acetyl-furan ให้ลักษณะกลิ่น ที่เรียกว่า balsamic-sinnamic ส่วนสารประกอบ furfural และ 5-methylfurfural เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของสารให้กลิ่นทั้งหมดที่พบในเนื้อมะขาม นอกจากนั้นยังมีสารพวก 5-pyrazines และ 2 lower alkylthiazoles ซึ่งจะให้ลักษณะกลิ่นที่เรียกว่า roasted

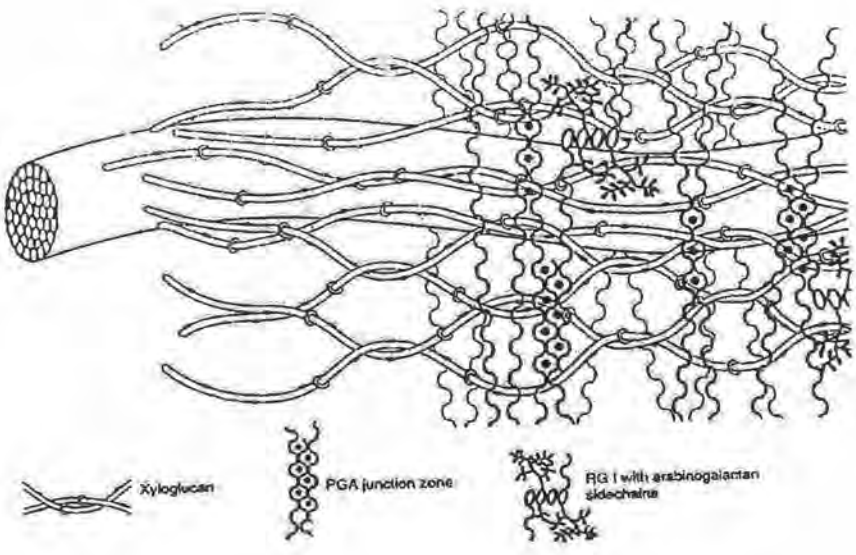
ตารางที่ 3 สารให้กลิ่นที่สำคัญในเนื้อมะขาม (Lee และ คณะ,1975)

ลักษณะของกลิ่น	ส่วนประกอบ
Roasted	5 pyrazines
	2 lower alkylthiazoles
Citrus	Limonene
	Terpinen-4-ol
	Neral
	∝-terpineol
	Geranial
	Geraniol
Warm spice-like	Methyl salicylate
	Safrole
	Ionones
	Cinnamaldehyde
	Ethyl cinnamate
Balsamic-cinnamic	2-acetyl-furan

ตารางที่ 4 องค์ประกอบที่สำคัญของเนื้อมะขามสุก (Nagaraja,1975)

องค์ประกอบ	ร้อยละโดยน้ำหนัก
ความชื้น	18.2
กรดทาร์ทาริค	9.8
กรดผสมอื่นๆ	6.7
น้ำตาล	38.2
เพคติน	2.4
โปรตีน	2.8
เซลลูโลส	19.4
เถ้า	2.8

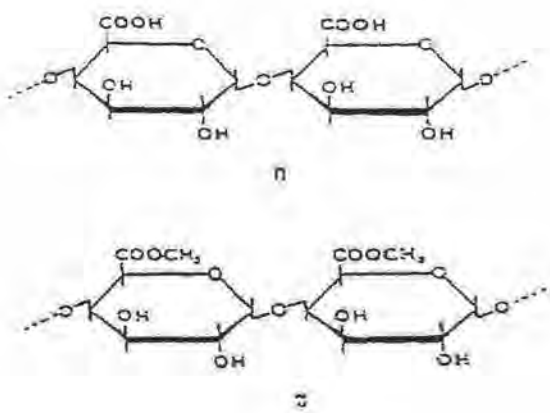
คุณภาพของเนื้อมะขามหวานที่ดี ควรจะมีความชื้น ร้อยละ 20-30 หากมะขามมีความชื้นมากจะทำให้ความหวานลดลง สำหรับกรดและน้ำตาลอาจเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับพันธุ์รสชาติของมะขามทั้งชนิดเปรี้ยวและชนิดหวานจะมีองค์ประกอบที่เหมือนกันคือ มีกรดทาร์ทาริก แต่ในมะขามเปรี้ยวจะมีมากกว่ามะขามหวานจึงทำให้มีรสเปรี้ยว ในมะขามหวานมีกรดทาร์ทาริก อยู่น้อยมาก (พลศรี, 2538) คาร์โบไฮเดรตที่พบในเนื้อมะขามหวานสุกส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลที่มีความสำคัญด้านรสชาติจึงทำให้มะขามหวานมีความหวาน Siliha (1987) วิเคราะห์น้ำตาลในมะขามโดยวิธี HPLC พบว่ามะขามมีอัตราส่วนของน้ำตาลกลูโคส ต่อ น้ำตาลฟรุคโตส เป็น 1:1 และมีน้ำตาลไซโลสร้อยละ 3.58 เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลรีดิวซิ่ง พบว่ามะขามมีระดับน้ำตาลซูโครสต่ำโดยมีซูโครส ร้อยละ 0.63 มีน้ำตาลกลูโคส ร้อยละ 9.98 และน้ำตาลฟรุคโตสร้อยละ 9.55 Anon (1982) วิเคราะห์องค์ประกอบเนื้อมะขาม พบว่า มีกรดทาร์ทาริก ร้อยละ 8-18 มีปริมาณรีดิวซิ่ง ร้อยละ 25-41 ปริมาณเพคติน ร้อยละ 2-3.5 โปรตีนร้อยละ 2-3 Nagaraja (1975) รายงานองค์ประกอบของเนื้อมะขามดังแสดงในตารางที่ 4 พบคาร์โบไฮเดรตที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซล คือ เซลลูโลส ร้อยละ 19.4 และ เพคตินร้อยละ 2.4 ซึ่งสารประกอบเพคตินจะพบมากบริเวณ middle lamella และสารประกอบเพคตินมักจะรวมกับเซลลูโลสที่บริเวณ primary cell wall ซึ่งเป็นส่วนทำหน้าที่ประสานโมเลกุลต่าง ๆ ในผนังเซลเข้าด้วยกันเช่นเดียวกับปูนในผนังคอนกรีตและเชื่อมเซลที่อยู่ข้างเคียงด้วย (Charley, 1972) ดังแสดงความเกี่ยวโยงดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ความเกี่ยวโยงของสารประกอบเพคตินและเซลลูโลสในเนื้อเยื่อพืช

2.1.3 สารประกอบเพคติน

เพคตินเป็นสารประกอบพวก heteropolysaccharide ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารประเภทน้ำผลไม้หรือไวน์ โดยก่อให้เกิดความข้นขึ้นเนื่องจากเพคตินมีสมบัติเป็นสารคอลลอยด์ที่ดูดน้ำได้ดี เมื่ออยู่ในสารละลาย เพคตินจะพองตัวทำให้สารที่อยู่ในน้ำผลไม้หรือไวน์นั้นแขวนลอยอยู่ไม่สามารถตกตะกอนลงมาได้เกิดเป็นสารละลายที่หนืด และข้น เพคตินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30,000-300,000 ดาลตัน ส่วนใหญ่อยู่ในชั้น middle lamella ของพืชซึ่งเป็นส่วนที่เชื่อมต่อกันระหว่างเซลของผนังเซลที่อยู่ติดกันในระหว่างการเจริญเติบโตของพืชเพคตินจะถูกสร้างขึ้นมาที่ผนังเซล สารที่สร้างขึ้นมาคือ โปรโตเพคติน ซึ่งเป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ และเป็นสารตั้งต้น ในการสร้างเพคติน เมื่อผลไม้เริ่มสุกโปรโตเพคติน จะถูกเปลี่ยนไปเป็นเพคติน แม้ว่าปริมาณของสารเพคตินในผนังเซลของพืชจะมีไม่มาก (1-3 %) (Marhshall และ Joseph,1986) แต่ก็มีผลอย่างมากต่อความแข็งแรงและความเหนียวของเนื้อเยื่อพืช โครงสร้างหลักของสารประกอบเพคตินทั่วไปจะเป็นโพลิเมอร์ของ galacturonic acid 150-1500 หน่วยเชื่อมต่อกันด้วย ∝-1,4 glycoidic linkage มีอยู่ 2 ฟอร์ม คือ ฟอร์มที่อยู่ในรูปของ free carboxyl group (pectic acid) และ ฟอร์มที่อยู่ในรูปที่ถูก esterify โดย methoxy group (pectin) ดังแสดงในรูป 3 ก และ ข



รูปที่ 3 โครงสร้างของสารประกอบเพคติน (Marhshall และ Joseph,1986)

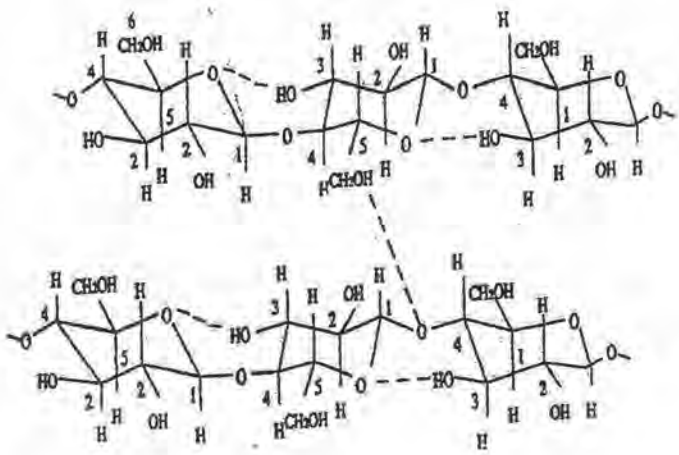
ก. ในรูป carboxylic หรือ กรดเพคติก

ข. ในรูป methyl-esterified หรือ เพคติน

บทบาทของเพคตินที่ทำให้เกิดความฉุ่นคือเพคตินมีลักษณะเป็นร่างแห มีความสามารถดูดน้ำได้ดีมาก มีประจุลบ เมื่อมีน้ำอยู่เพคตินจะพองตัวและแขวนลอยอยู่ในน้ำ ซึ่งจะป้องกันการตกตะกอนของพวกอนุภาคแขวนลอยต่างๆ ที่กระจายตัวในน้ำผลไม้นั้น ทำให้น้ำผลไม้ขุ่น การใช้เอนไซม์เพคติเนสย่อยสลายพันธะ $\alpha 1 \rightarrow 4$ ไกลโคซิดิค จะทำให้อนุภาคที่เสถียรของโปรตีนกับเพคตินถูกย่อยสลายบริเวณที่ห่อหุ้มโมเลกุลของโปรตีนบางส่วน ทำให้โอกาสที่อนุภาคคอลลอยด์จะรวมตัวกันจนมีขนาดใหญ่มีมากขึ้น (Ashurst, 1995)

2.1.4 เซลลูโลส

เซลลูโลสเป็นสารประกอบพวกโพลีแซคคาไรด์ชนิดหนึ่ง ที่มีมากในผนังเซลของพืชโดยโครงสร้างของโมเลกุลเป็นแบบไม่มีกิ่งก้านสาขา ประกอบด้วยหน่วยย่อยของน้ำตาลกลูโคสหลายๆ หน่วยต่อกันเป็นเส้นยาวด้วยพันธะแบบ β-(1,4)-glycosidic bond ดังแสดงในรูป 4



รูปที่ 4 โครงสร้างของเซลลูโลส; $(C_6H_{10}O_5)_n$ (Merchessult และ Sandararajan, 1983)

ประมาณกันว่าเซลลูโลสมีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 20,000-750,000 ดาลตัน ซึ่งเท่ากับ 100-4,000 หน่วยกลูโคส (น้ำหนักโมเลกุลของกลูโคสเท่ากับ 180.16 ดาลตัน) โมเลกุลของเซลลูโลส จะเรียงกันอยู่เป็นมัดเรียกว่า fibril เมื่อนำแต่ละ fibril ของเซลลูโลสธรรมชาติ ทั่ว ๆ ไป ในผนังเซลของพืชมาขยาย พบว่าจะแบ่งออกเป็น 3 ลักษณะที่ต่างกันคือ

1. Fringe micell ประกอบด้วยส่วนที่อยู่รวมกันเป็นกระจุก (crystalloids) และส่วนที่อยู่รวมกันแบบหลวม ๆ (amorphous)

2. โครงสร้างของของเซลลูโลสที่ม้วนหรือพับไปมาตามแกนของเส้นใยเซลลูโลส

3. โครงสร้างที่มีลักษณะเป็นริบบินหนาเกิดจากการม้วนไปมา โดยตั้งฉากกับแกนของริบบิน และริบบินจะม้วนเป็นเกลียว

เซลลูโลสไม่ละลายน้ำ ตัวทำละลายอินทรีย์ หรือสารละลายด่างอ่อน แต่จะละลายในกรดหรือด่างแก่ เมื่อสลายตัวโดยสมบูรณ์ด้วยกรดหรือเอนไซม์จะได้น้ำตาลกลูโคสอย่างเดียว แต่ถ้าสลายตัวไม่สมบูรณ์จะได้เซลโลไบโอส ซึ่งเป็นไดแซคคาไรค์ และโอลิโกแซคคาไรค์ อื่น ๆ

ในเนื้อมะขามพบเซลลูโลสและเพคตินค่อนข้างสูง (Nagaraja,1975) ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้จะขัดขวางการสกัดน้ำมะขาม Robertson และคณะ (1980) เสนอว่าความยากง่ายในการคั้นน้ำองุ่น ขึ้นอยู่กับปริมาณเพคติน ซึ่งในระหว่างการตีป่น สารประกอบเพคตินจะเกาะกันเป็นก้อนเหนียว ทำให้คั้นน้ำทำได้ยาก แนวทางการแก้ไขปัญหาการสกัดน้ำมะขามซึ่งเป็นผลไม้ที่มีความชื้นต่ำ มีสารประกอบที่รวมเป็นเนื้อเยื่อมาก โดยเฉพาะเพคตินที่มีผลมากต่อความข้นเหนียว ความข่น รวมทั้งมีผลต่อการแยกของเหลวออกจากเนื้อเยื่อ ด้วยการใช้เอนไซม์เข้ามาช่วยในการสกัดน้ำผลไม้และกลิ่นรสที่ละลายในน้ำผลไม้เนื้อนิ่ม

Jalee และคณะ (1980) สกัดน้ำมะขามด้วยเอนไซม์เพคติเนส เพื่อนำไปผลิตน้ำมะขามเข้มข้นด้วยการระเหยภายใต้ภาวะสุญญากาศ พบว่าเอนไซม์เพคติเนสความเข้มข้น 0.5% สามารถสกัดปริมาณน้ำมะขามสูงขึ้นร้อยละ 37 และน้ำมะขามที่ได้มีปริมาณเพคตินลดลงมากเมื่อเปรียบกับที่ไม่ใช้เอนไซม์ ทั้งนี้เนื่องจากการย่อยสลายสารประกอบเพคตินที่อยู่ในรูปไม่ละลาย ให้อยู่ในรูปที่ละลายได้มากขึ้น ทำให้ผนังเซลที่ยึดเกาะกันแน่น เปลี่ยนมาอยู่ในสภาพที่เกาะกันหลวม ๆ การบีบอัดจึงง่ายขึ้น

Kilara (1982) ศึกษาการใช้เอนไซม์กลุ่ม pectinolytic สกัดน้ำแอปเปิ้ล โดยบ่มด้วยเอนไซม์ก่อนจะนำมาบีบ ได้ปริมาณน้ำแอปเปิ้ลสูงขึ้น และพบว่าเมื่อใช้เอนไซม์เพคติเนสร่วมกับเซลลูเลส สกัดน้ำแอปเปิ้ล โดยบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ก่อนจะนำมาบีบคั้นน้ำผลไม้ พบว่าในตัวอย่างแอปเปิ้ล ที่ไม่ได้ใช้เอนไซม์เลย ความหนืดลดลงเพียงเล็กน้อย ตัวอย่างที่ใช้เพคติเนสเพียงอย่างเดียว ความหนืดลดลงมากกว่าเซลลูเลสเพียงอย่างเดียว แต่เมื่อใช้เอนไซม์ทั้งสองชนิดร่วมกัน ความหนืดลดลงมากที่สุด การลดลงของความหนืดในช่วงแรกจะลดลงเล็กน้อยเพราะโปรโตเพคตินเพิ่งเริ่มละลาย และจากนั้นความหนืดจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อการย่อยด้วยเอนไซม์เสร็จสมบูรณ์

Chang และคณะ (1994) รายงานการสกัดน้ำพลัมโดยใช้เอนไซม์เพคติเนสทางการค้าชื่อ Clarex พบว่าน้ำพลัมที่สกัดด้วยเอนไซม์ มีปริมาณสารแอนโทไซยานิน สูงกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมเอนไซม์ การเพิ่มของสารแอนโทไซยานิน เกิดจากการสลายตัวของสารประกอบของสารแอนโทไซยานินให้อยู่ในรูปที่ละลายได้มากขึ้น และปลดปล่อยออกมาจากผนังเซลมากขึ้น และยังสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิคได้สูงกว่าในตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์

Schreier และคณะ (1978) รายงานการสกัดน้ำแอปเปิ้ลด้วยเอนไซม์เพคติเนสบ่มในเนื้อแอปเปิ้ลที่ผ่านการบดหยาบมาแล้ว แล้วจึงคั้นเอาน้ำ ศึกษาสารให้กลิ่น พบว่าสารให้กลิ่นที่สำคัญของแอปเปิ้ล คือ C6-aldehyde และ C6-alcohol จากการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส สาร C6-aldehyde จะให้ค่าการยอมรับด้านกลิ่นสูงกว่า C6-alcohol สาร C6-aldehyde ที่สำคัญ ได้แก่ Hexanal และ trans-2-Haxanal น้ำแอปเปิ้ลที่ผ่านย่อยด้วยเอนไซม์ สามารถสกัดสาร 2 ชนิดนี้ได้สูงกว่าที่ไม่ผ่านการใช้เอนไซม์สกัด

เอนไซม์เพคติเนส เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสารประกอบเพคติน ใช้กันมากในอุตสาหกรรมน้ำผลไม้ กลุ่มเอนไซม์เพคติเนสประกอบด้วยเอนไซม์ต่าง ๆ กัน 5 ชนิด ซึ่งจะจัดเป็นกลุ่มย่อยได้ 2 กลุ่ม คือ

1. Depolymerizing pectic enzyme เอนไซม์กลุ่มนี้จะย่อยสายโพลีเมอร์ของสารประกอบเพคติก โดยกระบวนการ Depolymerize ตรงตำแหน่งพันธะกลูโคซิดิคที่อยู่ระหว่างโมโนเมอร์แต่ละตัวที่ต่อกันเป็นสายโพลีเมอร์ มีกลไกการย่อย 2 แบบ คือ ไฮโดรไลติก (hydrolytic) และ ทรานอิลิมิเนทิฟ (traneliminative)

1.1 Hydrolytic ในการตัดพันธะกลูโคซิดิกในสารโพลีเมอร์ ทุก ๆ 1 พันธะ จะต้องใช้น้ำร่วมด้วย 1 โมเลกุล ซึ่งการตัดอาจเริ่มจากปลายสุดของสายโพลีเมอร์ หรืออาจจะตัดแบบสุ่มที่บริเวณภายในสายโพลีเมอร์ เอนไซม์ในกลุ่มเพคติเนสที่ทำงานตามกลไกนี้ ได้แก่ โพลีเมทธิลกาแลคตูโรเนส (Polymethylgalacturonase , PMG) และ โพลีกาแลคตูโรเนส (Polygalacturonase , PG)

1.2 Transeliminative กลไกนี้ไม่ต้องใช้น้ำในปฏิกิริยาในการตัดสารโพลีเมอร์ ผลจากการตัดสายโพลีเมอร์ด้วยกลไกนี้จะได้ Acidic Oligosaccharide ที่ไม่อิ่มตัว เอนไซม์ในกลุ่มเพคติเนสที่ทำงานภายใต้กลไกนี้ คือ เพคตินไลเอส (pectin lyase , PL) กล่าวอีกนัยหนึ่ง คือ PMG และ PG ทำงานร่วมกันในกลไกแบบ Hydrolytic ในขณะที่ PL และ PAL จะทำงานร่วมกันในกลไกแบบ Transeliminative

2. Pectinesterase กลุ่มนี้จะแยกหมู่เมทธิล ออกจากสารประกอบเพคติน โดยการไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ ได้เป็น กรดเพคติก กรดเพคตินิค และเมทานอล

ชนิดของเพคติเนสต่อสารประกอบเพคตินที่มีอยู่ในผลไม้ซึ่งเป็นสารก่อให้เกิดความข้นหนืดในเนื้อผลไม้ สามารถสรุปได้ดังในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ชนิดและการทำงานของเพคติเนสต่อสารประกอบเพคติน (ปราณี, 2543)

1. เพคติเนสย่อยสลายพอลิเมอร์
   1.1 ทำงานกับเพคตินเป็นหลัก ได้แก่
      ก. พอลิเมทิลกาแลคทูโรเนส (PMG)
         ก.1 endo – PMG
         ก.2 exo – PMG
      ข. เพคตินไลเอส (PL)
         ข.1 endo – PL
         ข.2 exo – PL
   1.2 ทำงานกับกรดเพคติกได้แก่
      ก. พอลิกาแลคทูโรเนส (PG)
         ก.1 endo - PG
         ก.2 exo – PG
      ข. เพคเทตไลเอส (PAL)
         ข.1 endo – PAL
         ข.2 exo – PAL

2. เพคติเนสย่อยสลายพันธะเอสเทอร์ หรือทำปฏิกิริยาซาปอนนิฟิเกชั่น (saponification) ได้แก่
   เพคตินเอสเทอร์เรส (PE)

จากบทบาทของเพคติเนสและการกระจายของสารประกอบเพคตินและเซลลูโลสในเนื้อเยื่อผลไม้พบว่ามีผลให้เกิดปรากฏการณ์ต่าง ๆ หลังการใช้เอนไซม์ในกระบวนการสกัดน้ำผลไม้ หรือสกัดสารกลิ่นรสในผลไม้ ดังรวบรวมในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 บทบาทของเพคติเนสต่อการย่อยสลายเนื้อเยื่อผลไม้ (ปราณี, 2543)

เอนไซม์	ปฏิกิริยาที่เกิด	ผลิตภัณฑ์ที่ได้
เพคตินเอสเทอร์เรส (PE) ร่วมกับเกลือแคลเซียม	เกิดปฏิกิริยา saponification หรือ deesterification ที่ผนังเซลพืช	ทำให้ผลไม้มีความแน่นเนื้อลดลง
PG , PL , PAL	สลายเพคตินที่ผนังเซลบางส่วน	ทำให้เนื้อผลไม้อ่อนตัว (softening)
PG หรือ PL	สลายเพคตินที่ middle lamella บางส่วน ทำให้เนื้อเยื่อที่รวมอยู่ แยกออกจากกันกระจัดกระจาย	ทำให้เนื้อผลไม้ยุ่ยและ (maceration)
PG+PE และ/หรือ PL ร่วมกับเฮมิเซลลูเลส เช่น อะราบาเนส , กาแลคทาเนส	ย่อยสลายเพคติน , อะราบิแนน , กาแลกแทน ในส่วนที่เกี่ยวโยงที่ผนังเซล	ทำให้เนื้อเยื่อเซลผลไม้ทั้งหมดถูกทำลาย (disintigration) เกิดการปล่อยของเหลวละลาย เพคติน , อะราบิแนน และกาแลคแแทนสายสั้น เกิดเป็น คอลลอยด์ที่เสถียรและข้น
เซลลูเลส + PE + PG และ/หรือ PL	เกิดการย่อยสลายพอลิซัคคาไรด์ทั้งหมดของผนังเซลพืช	ทำให้เป็นของเหลวไม่ข้นไหลรินได้ดี สารให้กลิ่นรสละลายผสมได้ดี มีกลิ่นรสตามเฉพาะผลิตภัณฑ์
เฮมิเซลลูเลส , โอลิโกเมอเรส , เอ็กโซ-คาโบไฮเดรส , ไกลโคซิเดส (เช่น อะมัยเลส)	เกิดการย่อยสลายโมเลกุลของพอลิซัคคาไรด์ให้เป็นโมโนซัคคาไรด์	เกิดเป็นน้ำเชื่อมของน้ำตาลเชิงเดี่ยว , คู่ เช่น กลูโคสไซรัป , ฟรุกโตสไซรัป , โอลิโกฟรุกโตสไซรัป , ซึ่งมีรสหวานและตกผลึกที่ความเข้มข้นสูง

2.2 การใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรมน้ำผลไม้

เพคติกเอนไซม์ใช้เป็นเอนไซม์ทางการค้า มาประมาณ 40 ปีมาแล้ว ในสหรัฐอเมริกา องค์การอาหารและยา (Food and Drug Administration : FDA) ได้กำหนดนิยามของเอนไซม์เพคติเนส ที่มาจาก *Aspergillus niger* ว่าเป็น "good manufacturing practice : GMP" เพคติคเอนไซม์ทางการค้าโดยทั่วไปประกอบด้วย pectin methylesterase และ Polygaracturonase (Mountney และ Gould, 1988) โดยปกติมักจะมีการปรับสัดส่วนของเอนไซม์แต่ละชนิด เพื่อให้ได้เอนไซม์ที่มีคุณภาพตามต้องการ ซึ่งผู้ผลิตมักปกปิดสูตรการผลิตเพคติคเอนไซม์ที่มีองค์ประกอบของเอนไซม์ในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน เพื่อผลประโยชน์ทางการค้า สำหรับเอนไซม์เพคติเนสในรูปที่ถูกตรึง ไม่นิยมผลิตเป็นเอนไซม์ทางการค้า เนื่องจากมีข้อที่จำกัดในการใช้งานอันเนื่องมาจากคุณสมบัติของน้ำผลไม้เอง โดยน้ำผลไม้ที่มีสารประกอบที่มีขนาดโมเลกุล และความหนืดสูง มักมีข้อจำกัดอาจทำให้เกิดปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่ถูกตรึงเกิดได้ไม่ดีนัก

ดังนั้นการประยุกต์ใช้เอนไซม์ในการสกัดน้ำผลไม้โดยทั่วไปมีวัตถุประสงค์ดังนี้

2.2.1 เพื่อเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ที่สกัดได้ รวมทั้งสารกลิ่นรส

เพื่อให้สามารถสกัดน้ำผลไม้ออกมาได้มากขึ้น โดยเอนไซม์จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อผลไม้ เนื่องจากการสกัดน้ำผลไม้โดยทั่วไปจะใช้วิธีการบีบคั้นเพื่อทำให้ผนังเซลของผลไม้ถูกทำลาย และปลดปล่อยส่วนน้ำซึ่งอยู่ภายในเซลออกมา เซลผลไม้จะมีผนังเซลซึ่งประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และสารประกอบเพคติน ซึ่งสารประกอบเหล่านี้จะทำหน้าที่ป้องกันเซลไม่ให้ถูกทำลายจากแรงภายนอกได้ง่าย นอกจากนี้ระหว่างรอยต่อของเซลยังประกอบไปด้วยสารประกอบเพคติน ซึ่งทำหน้าที่คล้ายซีเมนต์ยึดเซลที่อยู่ติดกันเข้าไว้ด้วยกัน ดังนั้นการใช้เอนไซม์ในกลุ่ม เซลลูเลส และ เพคติเนส ไปย่อยสลายผนังเซล และสารเชื่อมรอยต่อระหว่างเซล จะช่วยให้ประสิทธิภาพในการบีบคั้นน้ำจากเนื้อผลไม้สูงขึ้น

การบ่มเอนไซม์กับเนื้อผลไม้ก่อนการบีบคั้น ในช่วงแรกโปรโตเพคตินเริ่มละลายความหนืดจะสูงขึ้น แต่เมื่อผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์อย่างสมบูรณ์ ความหนืดสุดท้ายจะลดลง ส่วนที่สองคือ ส่วนของ intermediary layer ซึ่งเป็นชั้นที่มี protopectin net work จับไว้ในโครงสร้าง ทำให้น้ำไม่ถูกปลดปล่อยออกมา การใช้เอนไซม์จะลดปริมาณโปรโตเพคตินที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งจะไปมีส่วนทำให้โครงสร้างของเจล ที่อุ้มน้ำถูกทำลาย และปลดปล่อยน้ำออกมาพร้อมกับเพิ่มสมบัติในการซึมผ่านของของแข็ง และส่วนที่สามคือ ส่วนของของแข็งจะปลดปล่อยองค์ประกอบที่สำคัญ

ออกมา เช่น สารให้กลิ่นรส (Schreier และคณะ,1978) ทำให้โครงสร้างของเซลอ่อนตัว ทำให้การบีบคั้นทำได้ง่ายขึ้น ดังนั้นจึงสกัดน้ำผลไม้ออกมาได้ในปริมาณที่มากขึ้น (Jaleel และ Sreekantiah,1978; Shamsiah และ Abdullah,1995) โครงสร้างของสารประกอบเพคติกที่ถูกทำลายโดยเอนไซม์กลุ่มเพคติเนส จะสูญเสียสมบัติความสามารถในการจับน้ำ (water binding) (Rombouts และ Pinik ,1978) ทำให้การบีบอัดสามารถสกัดเอาน้ำผลไม้ได้มากขึ้นเพิ่ม yield สูงขึ้น (Nelson และ Tressler,1980)

Jaleel และคณะ (1978) ได้สกัดน้ำกล้วยด้วยเอนไซม์เพคติเนส (PEC) ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 %(v/w) สามารถสกัดได้ %yield สูงสุด 91% ในขณะที่ไม่ใช้เอนไซม์ไม่สามารถสกัดน้ำออกมาได้ Joshi และคณะ (1991) ก็ได้ศึกษาการใช้เอนไซม์เพคติเนสในผลไม้เนื้อนิ่มชนิดอื่น ได้แก่ peaches, plums และ apricots พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณน้ำผลไม้ที่สกัดได้ ในการสกัดได้สูงขึ้นทั้ง 3 ชนิด และน้ำผลไม้ทั้ง 3 ชนิดมีความหนืดลดลงด้วย

การใช้เอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับเพคติเนส จะช่วยเร่งการสกัดสีของผลไม้ และช่วยให้สกัดน้ำผลไม้ออกจากเนื้อเยื่อพืชมากขึ้นทำให้สกัดน้ำผลไม้ได้ในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น ดังรายงานของ Solehah และ คณะ (1994) ใช้เพคติเนสในการสกัดเนื้อเยื่อของส้มโดยการใช้อัตราส่วนเนื้อเยื่อต่อน้ำ เป็น 1:1 พบว่าบริกซ์ของน้ำส้มเพิ่มขึ้น 1.4 บริกซ์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ใช้เอนไซม์ ส่วนการใช้เซลลูเลสเพียงอย่างเดียวไม่สามารถเพิ่มปริมาณบริกซ์ของน้ำส้มได้ แต่เมื่อใช้เซลลูเลสร่วมกับเพคติเนส สามารถเพิ่มปริมาณบริกซ์เป็น 1.8 บริกซ์ นอกจากนั้นเมื่อเนื่อเยื่อพืชถูกย่อยสลายอย่างสมบูรณ์แล้วจะทำให้เกิดการแยกชั้นของของเหลวและของแข็งในน้ำผลไม้ สามารถกำจัดออกได้โดยการกรอง และการปั่นเหวี่ยง แทนที่จะใช้วิธีการบีบคั้นผลไม้เพียงอย่างเดียว เพื่อผลิตน้ำผลไม้รูปแบบต่างๆ ออกมา การใช้เอนไซม์เพคติเนสร่วมกับเซลลูเลสในกระบวนการผลิตน้ำผลไม้จึงคุ้มค่ากว่า

ในผลไม้บางชนิดอาจจะต้องให้ความร้อนกับ mush ถึง 80-85 องศาเซลเซียส ก่อน เพื่อยับยั้งการทำงานของ oxidase ที่เป็นสาเหตุของการเกิดสีน้ำตาลด้วยเอนไซม์ ในน้ำผลไม้ แล้วจึงทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมจึงเติมเอนไซม์ลงไป อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์อาจจะอยู่ในช่วง 15-20 องศาเซลเซียส (cold treatment) หรือสูงกว่าอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (warm treatment) อุณหภูมิสูงเอนไซม์สามารถทำงานได้ดี จึงใช้เวลาน้อย แต่จะสูญเสียคุณภาพด้านกลิ่นรสของผลไม้ได้ง่าย โดยทั่วไปอุณหภูมิไม่ควรเกิน 55 องศาเซลเซียส (Ashurst, 1995) ส่วนการทำปฏิกิริยา ที่อุณหภูมิต่ำ จะรักษาคุณภาพด้านกลิ่นรสได้ดี และลดปัญหาเรื่องจุลินทรีย์ แต่ต้องใช้ปริมาณของเอนไซม์เพิ่มขึ้นและใช้เวลาในการสกัดนานขึ้น สิ่งที่

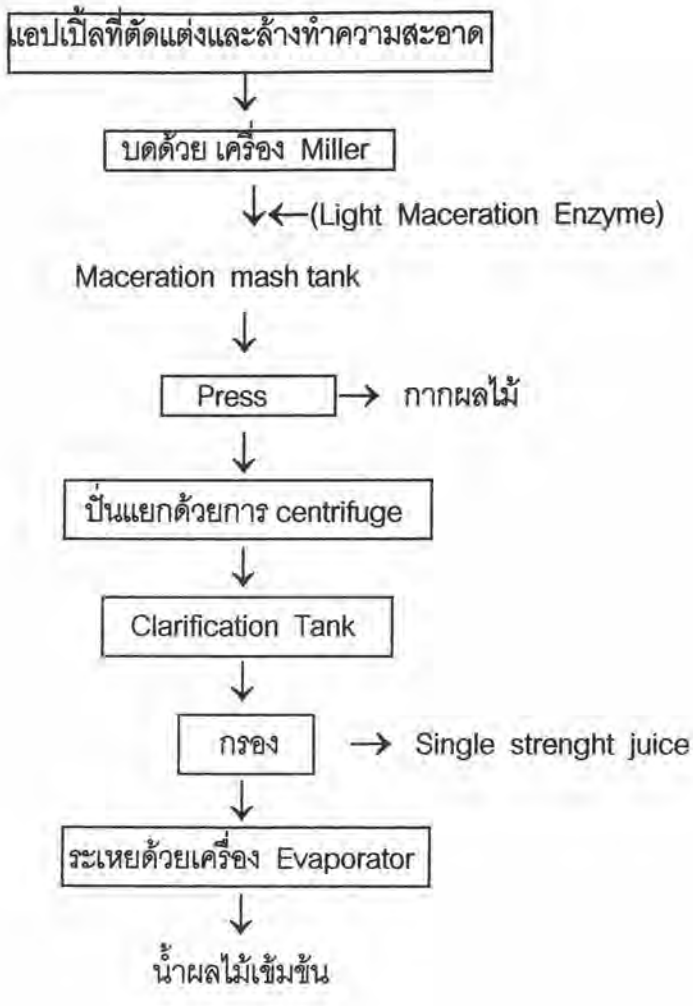
ต้องคำนึงถึงในการใช้เอนไซม์ในการสกัดน้ำผลไม้ สามารถสรุปได้ 3 ประการ (Baumann, 1981) ดังนี้

1. สภาพที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งมีปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องคือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ใช้ ปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ อุณหภูมิในการย่อย ระยะเวลาในการย่อย สภาพความเป็นกรดเป็นด่าง และสารยับยั้งเอนไซม์ (enzyme inhibitor) ที่อาจจะมีอยู่ในวัตถุดิบ ดังในรายงานของ Shamsiah และ Abdullah (1995) สกัดน้ำกล้วยด้วยเอนไซม์ทางการค้าเพคติเนสชื่อ Pectinex Ultra SP-L® โดยพบว่าระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ที่การสกัด คือ 0.32-0.42 % ที่ pH 3.0-3.3 ช่วงอุณหภูมิ 35-50 องศาเซลเซียส เป็นระดับที่สามารถสกัดน้ำผลไม้จากกล้วยได้ในปริมาณสูงสุด โดยบ่มเอนไซม์นาน 4 ชั่วโมง

2. ความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบเพคติน ซึ่งขึ้นกับชนิดของเอนไซม์ทางการค้า (commercial enzyme preparation) ที่ใช้ และองค์ประกอบสารประกอบเพคตินที่มีอยู่ในวัตถุดิบ ดังนั้นจะต้องมีการเลือกเอนไซม์ที่จะใช้ให้เหมาะสมกับวัตถุดิบที่จะนำมาผลิต ซึ่งจะสังเกตได้ คือ ถ้าการย่อยเป็นไปได้ดี ความหนืดของของผสมระหว่างเอนไซม์กับวัตถุดิบจะลดลง (Noach, 1986; Gous และคณะ, 1987)

3. คุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ที่ได้ เช่น ความใส สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส ความคงตัว (Schreier และคณะ,1978 และ Chang และคณะ, 1994)

กระบวนการสกัดน้ำผลไม้แต่ละชนิดใช้กรรมวิธีการสกัดแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับลักษณะโครงสร้าง ตำแหน่งและลักษณะเนื้อเยื่อที่มีในน้ำผลไม้ รวมทั้งลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ น้ำผลไม้บางอย่างมีลักษณะใส บางอย่างขุ่น กระบวนการสกัดโดยวิธีดั้งเดิมเป็นวิธีที่ไม่เติมเอนไซม์ช่วยในการตัดพันธะของผนังเซลผลไม้ ผลผลิตที่ได้จะมีปริมาณต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีที่สกัดโดยเติมเอนไซม์ (Jilance,1995) และ น้ำผลไม้ที่ได้จะมีลักษณะขุ่น และหนืด เนื่องจากมีเพคตินที่ละลายน้ำได้ปรากฏอยู่ในรูป colloid ตัวอย่างกระบวนการสกัดน้ำผลไม้บางชนิดแสดงได้ดังรูปที่ 5

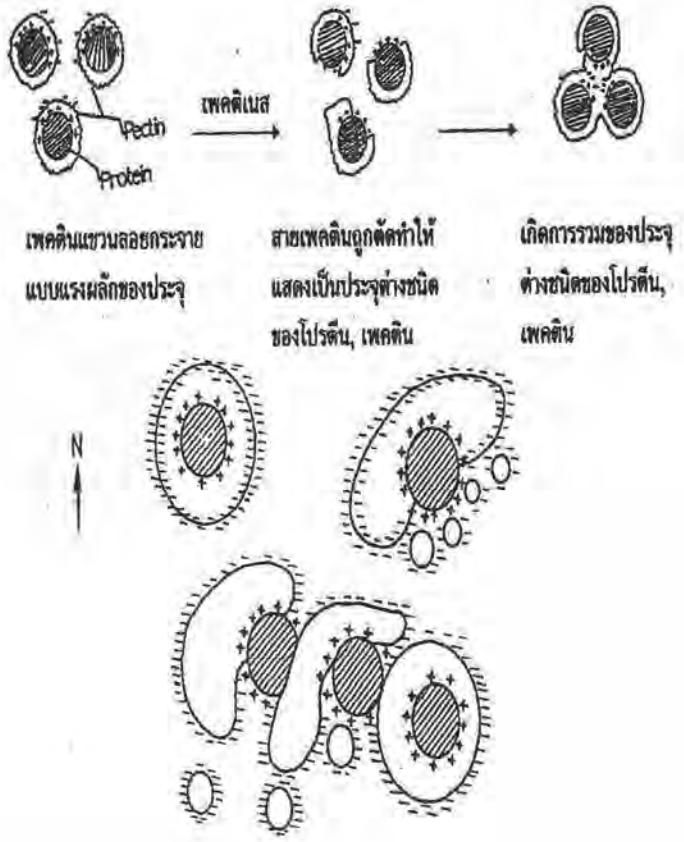


รูปที่ 5 กรรมวิธีการสกัดน้ำแอปเปิ้ลชนิดใส โดยใช้เอนไซม์ (Jilane ,1995)

2.2.1 เพื่อทำให้น้ำผลไม้ใส

น้ำผลไม้ใสมีลักษณะปรากฏ 2 อย่างคือ ใส และขุ่น การผลิตน้ำผลไม้ใส เช่น น้ำแอปเปิ้ล น้ำองุ่น น้ำลิ้นจี่ น้ำผลไม้ดังกล่าวไม่มีของแข็งมีเฉพาะของแข็งที่ละลายได้ คือ กรดซิตริก น้ำตาล และสารให้กลิ่นรส กระบวนการผลิตน้ำผลไม้ใสต้องผ่านขั้นตอนสำคัญ คือ หลังจากการคั้นน้ำผลไม้ จะคั้นแยกตะกอนแขวนลอยของเพคติน เซลลูโลส ออกไป ถ้าเป็นตะกอนแข็งเรียก เซลหิน (stone cell) ก็กรองออกได้ง่ายด้วยตะแกรง หรือแรงเหวี่ยง แต่ถ้าหากเป็นเซลสำลี (cotton cell) หรือเซลแขวนลอยของคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นได้ทั้งเพคติน , เซลลูโลส ซึ่งอาจจะรวมกับโปรตีนก็จะแยกออกยากด้วยวิธีกรองทั่วไป จึงต้องใช้วิธีของเอ็นไซม์เพคติเนสย่อยสลายเพคติน

ให้เปิดออก เพื่อให้โมเลกุลโปรตีนในคอลลอยด์และเพคติน มารวมกันเกิดเป็นโมเลกุลใหญ่ขึ้น จะได้มีโอกาสตกตะกอนได้ง่ายขึ้น ตามรูปที่ 6



รูปที่ 6 การย่อยสลายเพคตินเพื่อลดการรวมตัวเป็นคอลลอยด์ในน้ำผลไม้ในกรณีที่ร่วมกับโปรตีน

แม้ว่าองค์ประกอบที่ทำให้น้ำผลไม้ขุ่นที่พบตามธรรมชาติส่วนใหญ่ ส่วนใหญ่ยังไม่ทราบเป็นที่แน่ชัด แต่จากการศึกษาของนักวิจัยหลายท่าน มีความเชื่อว่าความขุ่นของน้ำผลไม้เกิดจากสารประกอบในเซลพืชซึ่งเป็นสาร hydrocolloids เช่น แทนนิน เพคติน แป้ง เจลาติน กัม โปรตีน จากผลไม้ซึ่งมีอยู่หลายชนิด นิวเคลียส และองค์ประกอบอื่น ๆ สารประกอบ phenolic ที่พบในน้ำผลไม้ที่เป็นสาเหตุของความขุ่น มี 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม cinnamic acid และอนุพันธ์ กลุ่ม flavans และ flavonol กลุ่ม glycoside dihydrochalcones และ glycoside และกลุ่ม condensed tannin

(Leu และ Chang, 1971) ซึ่งความขุ่นของน้ำผลไม้ทำให้เกิดการเปลี่ยนสี (browing of polyphenol) กลิ่นรส (flavor) ได้

2.3 กระบวนผลิตน้ำผลไม้ (Bielig, 1973)

น้ำผลไม้ หมายถึง ของเหลวที่สกัดได้จากผลไม้ส่วนที่สามารถได้ อาจจะสกัดโดยการบีบคั้น หรือวิธีการเชิงกลอื่น ๆ (Pollard, 1971) โดยทั่วไปน้ำผลไม้ที่ได้มักจะขุ่น มีส่วนประกอบของเซลที่เป็นคอลลอยด์ กระจายอยู่แตกต่างกันออกไปตามลักษณะของเนื้อเยื่อของผลไม้ หากของเหลวที่ผลิตได้นั้นเป็นของเหลวเข้มข้นด้วยกลิ่น และมีปริมาณน้ำตาลสูง อาจเรียกผลผลิตที่ได้นี้ว่า " หัวเชื้อน้ำผลไม้เข้มข้น " นอกจากนั้นอาจมีส่วนที่เป็นน้ำมันหรือไขมัน และเม็ดรงควัตถุต่าง ๆ น้ำผลไม้บางชนิดจะบริโภคในลักษณะขุ่นตามธรรมชาติ แต่บางชนิดจะบริโภคหลังจากกระบวนการทำให้ใสแล้ว น้ำผลไม้ถ้าแบ่งตามลักษณะ แบ่งเป็น 2 ชนิด ได้แก่

1. น้ำผลไม้ชนิดขุ่น (cloud juice) เป็นน้ำผลไม้ที่มีสารแขวนลอยของสารประกอบเพคตินกระจายอยู่ในน้ำผลไม้ เช่น น้ำส้ม และน้ำมะม่วง เป็นต้น
2. น้ำผลไม้ชนิดใส (clear juice) เป็นน้ำผลไม้ที่ต้องการกำจัดสารแขวนลอยของเพคตินออกไป เพื่อให้น้ำผลไม้ใส เช่น น้ำแอปเปิ้ล และ น้ำองุ่น เป็นต้น

กระบวนการผลิตน้ำผลไม้โดยทั่วไป มีดังนี้

1. การล้างผลไม้ มีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัด หรือลดสิ่งปนเปื้อน วิธีการล้างที่ใช้ในกระบวนการผลิต ได้แก่ การแช่ การล้างด้วย ซึ่งได้มีการพัฒนาเครื่องมือ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการล้างมากยิ่งขึ้น
2. การสกัดน้ำผลไม้ ประกอบด้วยกระบวนการต่อเนื่อง 2 กระบวน ได้แก่

2.1. การตีป่น (crushing) เป็นการทำให้ผลไม้มีขนาดเล็กลง เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการสกัด การตีป่นทำได้หลายวิธี ได้แก่ การสับด้วยเครื่องสับขนาดเล็ก (blender) การตีป่นด้วยเครื่องสับขนาดใหญ่ที่เรียกว่า hammer mill

2.2. การคั้น (pressing) หลังจากตีป่นแล้วคั้นแยกส่วนที่เป็นน้ำแยกออกจากเนื้อ อุปกรณ์ที่ใช้ในการคั้นน้ำผลไม้มีหลักในการทำงานเหมือนกัน คือ การใช้แรงกดทับ นอกจากนั้นยังมีการใช้เอนไซม์เพื่อช่วยในการสกัด โดยเอนไซม์จะย่อยสารเพคตินทำให้สกัดของเหลวได้ง่ายขึ้น นิยมใช้ในผลไม้ที่มีลักษณะนิ่มและผลไม้ที่มีความหนืดสูง

3. การทำให้น้ำผลไม้ใส น้ำผลไม้บางชนิดนิยมบริโภคในลักษณะใสไม่มีตะกอนหรือความขุ่น เช่น น้ำองุ่น น้ำแอปเปิ้ล น้ำมะนาว กรรมวิธีทำให้ใสจึงมีบทบาทสำคัญในการผลิตน้ำผลไม้ให้ใส ซึ่งทำได้หลายวิธีได้แก่ การใช้ความร้อน การกรอง การใช้เอนไซม์ และการใช้เครื่องปั่นแยก

3.1 การให้ความร้อนเพื่อพาสเจอไรซ์น้ำผลไม้มีผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะใสขึ้น เนื่องจากพลังงานความร้อนทำให้สารแขวนลอยต่าง ๆ เกิดการตกตะกอน และกรองออกได้ง่ายขึ้น ในการผลิตน้ำแอปเปิ้ล โดยทั่วไป จะพาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 82-85° C เป็นเวลา 2-3 วินาที แล้วลดอุณหภูมิลงถึง 27 ° C โดยเร็ว แล้วจึงกรองหรือปั่นแยกออกจากส่วนใส (Nelson และ Tressler, 1980)

3.2 สารช่วยตกตะกอน (fining agent) เป็นสารที่มีประจุตรงข้ามกับประจุของอนุภาคแขวนลอยในน้ำผลไม้ ซึ่งทำปฏิกิริยาได้กบอนุภาคแขวนลอย ทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้นจนตกลงมาเป็นตะกอน สารช่วยตกตะกอนมักเติมในน้ำผลไม้ที่กรองยาก หรือทิ้งให้ตกตะกอนได้ยาก สาร fining agent ได้แก่ ไข่ขาว, casein, gelatin, tannin และ bentonite clay ประสิทธิภาพการทำงานของสารเหล่านี้ขึ้นกับอุณหภูมิ, pH และปริมาณที่ใช้

3.3 เอนไซม์ ทำให้น้ำผลไม้ใส โดยเอนไซม์จะย่อยเพคตินให้เปิดออก เพื่อให้โมเลกุลโปรตีนในคอลลอยด์และเพคติน มารวมกันเกิดเป็นโมเลกุลใหญ่ขึ้น มีโอกาสตกตะกอนได้ง่ายขึ้นทำให้น้ำผลไม้ เกิดการแยกชั้นได้ส่วนตะกอนและส่วนใส เอนไซม์ที่ใช้ทางการค้าเป็นกลุ่ม pectic enzyme มีหลายชนิด เช่น Pectinex® และ Pectinol® เป็นต้น

3.4 การใช้เครื่องปั่นแยก วิธีนี้ขึ้นกับประสิทธิภาพของเครื่องในการปั่นแยกที่มีขนาดต่างกัน อาจใช้ร่วมกับสารช่วยตกตะกอนได้

4. การถนอมเก็บรักษาน้ำผลไม้ การให้ความร้อน การทำให้เข้มข้น หรือการใช้สารเจือปนเพื่อเก็บถนอมน้ำผลไม้ วิธีเก็บถนอมที่ใช้กันมาก ได้แก่

4.1 การให้ความร้อน ได้แก่ การพาสเจอไรซ์ เป็นการให้ความร้อนระดับปานกลาง ซึ่งมีผลทำให้คุณภาพด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะปรากฏ รวมทั้งคุณค่าทางโภชนาการของน้ำผลไม้เปลี่ยนแปลงเล็กน้อยแต่อายุการเก็บค่อนข้างสั้น อุณหภูมิที่ใช้สำหรับการพาสเจอไรซ์ทั่วไป คือ 80 ° C สำหรับผลไม้ที่มีความเป็นกรดสูงใช้อุณหภูมิ 72-75° C ก็เพียงพอในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์

4.2 การทำให้น้ำผลไม้เข้มข้น จนได้ค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมากกว่า 45 องศาบริกซ์ จะช่วยรักษาเสถียรภาพของความขุ่นและกลิ่นรสขณะเก็บได้ดี วิธีการทำให้น้ำผลไม้เข้มข้นทางการค้ามีหลายวิธี ได้แก่ การระเหยที่ภาวะสุญญากาศ การทำให้เข้มข้นที่ภาวะเยือก

แข็ง และ reverse osmosis การใช้เครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ (vacuum evaporator) ร่วมกับการใช้ความร้อนต่ำ ทำให้น้ำผลไม้ที่ได้เปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านสี กลิ่น รสชาติ และคุณค่าทางอาหารเพียงเล็กน้อย

4.3 การใช้สารเคมี ในการเก็บถนอมน้ำผลไม้ เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมาก สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ เกลือเบนโซเอต ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ กรดซอร์บิค และกรดแอสคอบิค การเลือกชนิดของสารเคมีขึ้นกับสมบัติของน้ำผลไม้โดยเฉพาะค่าความเป็นกรด และขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำผลไม้นั้น ๆ กรดเบนโซเอตและเกลือเบนโซเอต ใช้ได้ดีกับน้ำผลไม้ที่มีความเป็นกรดสูง (pH≤4.0) (Doores, 1984) ปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ในอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 ให้ใช้ โซเดียมเบนโซเอต ใช้ได้ปริมาณสูงสุดไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัมในอาหาร (1,000ppm)

5. การบรรจุ ภาชนะที่ใช้บรรจุ ได้แก่ ขวดแก้ว ขวดพลาสติก ถุงพลาสติก กระป๋องโลหะ และกล่องกระดาษ laminate กับ พลาสติก การบรรจุต้องไม่มากเกินไป เพราะจะทำให้ภาชนะบรรจุโป่งบวมจากการขยายตัวของน้ำผลไม้

6. การศึกษาอายุการเก็บรักษา อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ หมายถึง เวลาในการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ ไม่เป็นที่ยอมรับ ความสำคัญของการศึกษาอายุการเก็บรักษาเพื่อกำหนด วันหมดอายุของอาหารให้ผู้บริโภคทราบ และ รับประกันว่าในช่วงเวลาที่ระบุไว้ ผลิตภัณฑ์ยังมีคุณภาพ การที่ผลิตภัณฑ์สามารถเก็บได้เป็นระยะเวลาหนึ่ง โดยไม่เสื่อมเสียคุณภาพเป็นสิ่งจำเป็น อายุการเก็บของผลิตภัณฑ์จะเป็นเท่าใดนั้นย่อมขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์จะสามารถเก็บไว้ได้นานมากน้อยแค่ไหน ย่อมขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ตัวผลิตภัณฑ์เอง ภาชนะบรรจุ สภาพการเก็บ เป็นต้น สภาพการเก็บที่สำคัญ ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ออกซิเจน และ แสง ก่อนที่จะศึกษาอายุการเก็บรักษา จำเป็นต้องเข้าใจหลักการในการแปรรูปผลิตภัณฑ์นั้น และเข้าใจถึงลักษณะการเสื่อมเสียที่อาจเกิดขึ้นได้กับผลิตภัณฑ์นั้น ๆ

การศึกษาอายุการเก็บรักษา ของผลิตภัณฑ์ สามารถทำได้โดยทดลองเก็บจริง เก็บผลิตภัณฑ์ไว้ในสภาพที่วางขายในท้องตลาดตั้งแต่ผลิตออกมา และมีการทดสอบตลอดเวลา ซึ่งอาจจะเป็นเดือนละครั้ง จนกระทั่งผู้บริโภคไม่ยอมรับ แสดงว่าหมดอายุการเก็บรักษา วิธีนี้จะได้รายละเอียดมาก แต่ก็เสียเวลามากเช่นกัน การเสียของน้ำผลไม้ส่วนใหญ่ มีสาเหตุมาจาก (Ashurst,1995)

1. เกิดจากปฏิกิริยาทางเคมี เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของน้ำผลไม้

ถูกออกซิเดชั่น เช่น สารประกอบโพลีฟีนอลที่ถูกออกซิไดซ์โดยเฉพาะควิโนน มีความสามารถกับโปรตีนและแทนนินได้เป็นรงควัตุสีน้ำตาลและทำให้ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเกิดได้เร็วขึ้น นอกจากนั้นสารพวก flavonoid เช่น aldehydes สามารถเกิดออกซิไดซ์ได้ง่าย ทำกลิ่นของน้ำผลไม้ผิดปกติได้

2. ชีวเคมี ส่วนใหญ่มีสาเหตุจากกิจกรรมของเอนไซม์ จาก colloidal, สารประกอบอินทรีย์ในน้ำผลไม้ เช่น pectin, protein เอนไซม์ส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม carbohydrase เช่น sucrase (invertase) ซึ่งจะเร่งการเกิด hydrolysis ของคาร์โบไฮเดรต และ lipase เร่งการเกิด hydrolysis ของไขมัน และ esters

3. กายภาพ เช่น แสง อุณหภูมิก็เป็นสาเหตุหนึ่งของการเปลี่ยนแปลงกลิ่น

4. รสปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่มีในน้ำผลไม้ น้ำผลไม้โดยทั่วไปจะมีความเป็นกรดค่อนข้างสูง จุลินทรีย์ที่เจริญได้จึงเป็นพวกที่ทนกรดได้ เช่น lactic acid bacteria, ยีสต์ และเชื้อราบางชนิดซึ่งเจริญได้ที่ผิวหน้าของน้ำผลไม้ถ้ามีอากาศอยู่

การควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์จึงมีความสำคัญต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ โดยเริ่มจากวัตถุดิบขณะผลิตว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างไรบ้าง เช่น การเปลี่ยนแปลงของสี การเกิดออกซิเดชั่น และ การเกิด browning reaction และยังต้องตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่สำเร็จแล้วอีกครั้งหนึ่ง โดยตรวจสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ดังนี้

1. คุณสมบัติทางกายภาพ เช่น สี ความเข้มข้น ความหนาแน่น ความหนืด ลักษณะที่เห็น กลิ่น รส ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้อาจจะเห็นการเปลี่ยนแปลงได้ชัดก็ต่อเมื่อผลิตภัณฑ์นั้นเสียแล้ว การตรวจสอบไว้ก่อนจะทำให้ทราบได้ว่า ผลิตภัณฑ์นั้นไม่ดี จะเก็บไว้ได้ไม่นาน หรือยังมีลักษณะที่ดีเก็บไว้บริโภคตามเวลาที่กำหนดไว้

2. คุณสมบัติทางเคมี เช่น การหาปริมาณกรด คุณสมบัติทางเคมีจะบอกให้ทราบถึงลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ว่าเป็นไปตามต้องการหรือไม่ ซึ่งเราจะไม่เห็นด้วยตาเปล่า ถึงแม้ผลิตภัณฑ์นั้นจะเสื่อมเสียไปแล้วก็ตาม

3. การควบคุมจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ เช่น ตรวจหาปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ เพื่อให้แน่ใจว่าปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ หรือไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย หรือทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมเสียเมื่อเก็บไว้เป็นต้น

2.3 หัวเชื้อน้ำผลไม้เข้มข้นสำหรับเครื่องดื่มอัดแก๊ส

ในปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่มน้ำอัดลม ส่วนประกอบที่สำคัญที่เป็นหัวใจของเครื่องดื่มน้ำอัดลม คือ หัวน้ำเชื้อ ซึ่งจะเป็นสูตรลับที่บริษัทผู้ผลิตต้องสั่งซื้อจากบริษัทแม่ในต่างประเทศ โดยมักจะส่งเข้ามาในรูปหัวน้ำเชื้อสำเร็จ หัวน้ำเชื้อสำหรับเครื่องดื่มอัดแก๊สบางชนิดจะอยู่ในรูปของของเหลวเพียงอย่างเดียว แต่โดยทั่วไปแล้ว หัวน้ำเชื้อสำหรับเครื่องดื่มอัดแก๊สนั้นจะประกอบด้วย 2 ส่วน

1. ส่วนที่เป็นของแข็ง ซึ่งอาจจะเป็นผลึกหรืออยู่ในรูปผงละเอียด ซึ่งมักจะประกอบด้วยส่วนที่เป็น กรด สีผสมอาหาร และสารถนอมอาหาร ส่วนที่เป็นของแข็งนี้จะต้องเก็บไว้ในห้องที่ปราศจากความชื้น ฝุ่นละออง และเชื้อราต่าง ๆ

2. ส่วนที่เป็นของเหลว จะเป็นส่วนของสารปรุงแต่งกลิ่นรส สำหรับหัวเชื้อส่วนที่เป็นของเหลวนี้ จะต้องเก็บไว้ที่ห้องเย็นที่อุณหภูมิระหว่าง 4-10 °C เพื่อรักษากลิ่นรสเอาไว้ให้คงเดิม

การนำน้ำผลไม้เข้มข้นมาผลิตเป็นเครื่องดื่มน้ำอัดลม ได้มีการทดลองโดย Irish (1982) พบว่าการนำน้ำส้มเข้มข้น 72 องศาบริกซ์ 1 ส่วน ผสมกับน้ำเชื่อม 60 องศาบริกซ์ 5 ส่วน และน้ำมันที่สกัดจากผลส้มเล็กน้อย จะได้เป็นหัวเชื้อเข้มข้นสำหรับน้ำอัดลมรสส้ม โดยในการเตรียมเป็นน้ำอัดลม จะใช้หัวเชื้อเข้มข้น 1 ส่วน เจือจางด้วยน้ำ 3 ส่วน จากนั้นจึงอัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์บรรจุขวด โดยการฆ่าเชื้อที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

ธนาวัฒน์ (2531) ได้ผลิตหัวเชื้อเข้มข้นสำหรับเครื่องดื่มน้ำอัดลมจากผักและผลไม้ ซึ่งได้แก่ ขิงแก่ ดอกกระเจี๊ยบ และสับปะรดพบว่าองค์ประกอบที่เหมาะสมที่ทำให้เครื่องดื่มน้ำอัดลมได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบสูงที่สุดสุด คือ อัตราส่วนของน้ำกระเจี๊ยบแดงและน้ำสับปะรด เป็นสองต่อหนึ่ง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 14 องศาบริกซ์ และค่าความเป็นกรดร้อยละ 0.13 ส่วนภาวะในการเตรียมหัวเชื้อเข้มข้น คือ ระเหยน้ำภายใต้ภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมน้ำเชื่อม และน้ำผลไม้ที่เตรียมได้ใหม่ๆ จนได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 56 องศาบริกซ์ จากนั้นเติมสารโซเดียมเบนโซเอตเป็นสารกันเสียในปริมาณ 700 ppm พบว่าหัวเชื้อเข้มข้นที่ได้สามารถเก็บได้นาน 3 เดือน ที่อุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส และน้ำอัดลมที่ผลิตจากหัวเชื้อเข้มข้นสามารถเก็บได้นานกว่า 6 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง โดยน้ำอัดลมจะยังมีคุณภาพที่ดี เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

Dalpat และ Islam (1996) ได้เตรียมน้ำฝรั่งอัดแก๊ส โดยเตรียมเป็นหัวเชื้อเข้มข้นให้ได้ 40 องศาบริกซ์ด้วยการใช้น้ำเชื่อมเป็นตัวปรับและให้มีปริมาณน้ำฝรั่งร้อยละ 40 ปรับปริมาณกรดให้

ได้ร้อยละ 1 เตรียมเป็นน้ำฝรั่งพร้อมดื่มโดยใช้หัวเชื้อเข้มข้น 50 มิลลิลิตร เติมน้ำเย็นที่อัดด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ความดัน 80 PSI อุณหภูมิน้ำเย็น 4-6 องศาเซลเซียส เติมให้ครบ 200 มิลลิลิตร ปิดฝาและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที น้ำฝรั่งพร้อมดื่มอัดแก๊สสามารถเก็บเป็นเวลาถึง 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 3-5 องศาเซลเซียส และ คุณภาพ ด้านสีกลิ่น ไม่เปลี่ยนแปลงผู้ทดสอบยังยอมรับผลิตภัณฑ์

Jacob และ Narasimham (1992) เตรียมน้ำขนุนพร้อมดื่มอัดแก๊ส โดยใช้ปริมาณน้ำขนุนร้อยละ 12 ปรับให้ได้ 15 องศาบริกซ์ด้วยน้ำตาลและปรับปริมาณกรดให้ได้ร้อยละ 0.3 อัดแก๊สด้วยความดัน 0.775 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เป็นสูตรที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุด

2.4 ขั้นตอนการอัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

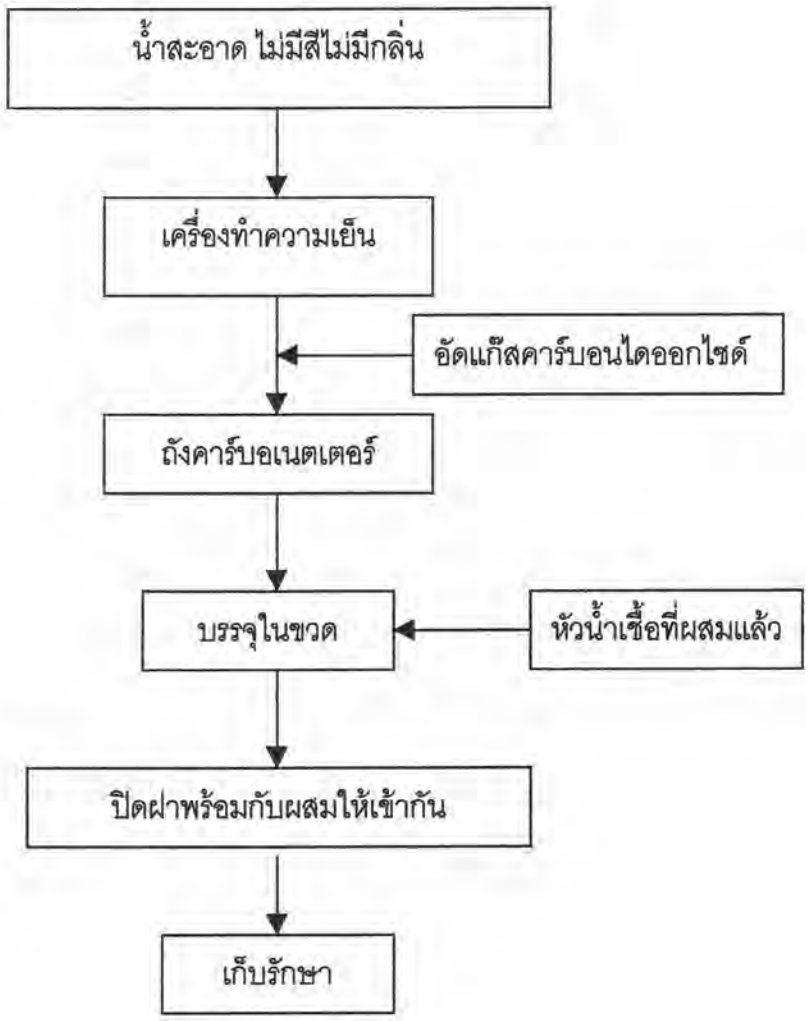
การอัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกต้องเป็นสิ่งที่สำคัญในเครื่องดื่มประเภทนี้ เพราะแก๊สจะทำให้เกิดรสซ่า การอัดแก๊สคือ การทำให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ละลายลงไปในน้ำโดยใช้อุณหภูมิต่ำหรือโดยการเพิ่มความดัน ส่วนใหญ่แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ทางโรงงานได้รับมักจะอยู่ในรูปของเหลวซึ่งบรรจุในถังที่ทนความดัน เมื่อเปิดให้แก๊สออก แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์จะออกมาตามท่อไปยังเครื่องที่เรียกว่า คาร์บอเนตเตอร์ (carbonator) น้ำกับน้ำตาลและสารให้รสกลิ่นที่ผสมกันแล้วจะไหลผ่านมายังคาร์บอเนตเตอร์นี้ เครื่องดื่มนี้จะจับแก๊สเอาไว้จำเป็นต้องควบคุมปริมาณแก๊ส แล้วผ่านไปยังเครื่องบรรจุภายใต้ความดันหลังจากผนึกแล้ว เครื่องดื่มยังสามารถเก็บแก๊สไว้ได้ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นแก๊สที่ไม่มีสี ไม่เป็นพิษ มีกลิ่นเฝื่อนๆ เล็กน้อย อาจจะได้จากการเผาไหม้พวกถ่านและน้ำมัน พวกหินปูน (ไลม์สโตน) หรือ อาจจะจับเอามาจากการหมักเหล้า ไวน์ เบียร์ ที่มีจำหน่ายกันอยู่จะเป็นของเหลวในถังที่ทนความดัน หรือเป็นน้ำแป้งแห้ง เครื่องดื่มอัดแก๊สนี้จะมีปริมาตรแก๊สที่อัดอยู่แตกต่างกันออกสามารถแบ่งได้ดังนี้

1. เครื่องดื่มอัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาตรมากกว่า 3.5 ปริมาตรขึ้นไป ได้แก่ ginger ale, colas และเครื่องดื่มประเภทใช้ผสม เช่น club soda และ tonics เป็นต้น
2. เครื่องดื่มอัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาตร 2.5-3.5 ปริมาตร ได้แก่ เครื่องดื่มประเภท Root beer, Lemon, Lime, Cream soda และเครื่องดื่มประเภท grapefruit
3. เครื่องดื่มอัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาตร 1.0-2.5 ปริมาตร ได้แก่ เครื่องดื่มประเภท Strawberry, Cherry, Grape, Orange, Pineapple และ Punch เป็นต้น

ส่วนผสมที่สำคัญในการอัดแก๊ส มี 3 ชนิด คือ หัวเชื้อน้ำที่ผสมแล้วตามสูตรแล้ว น้ำ และ

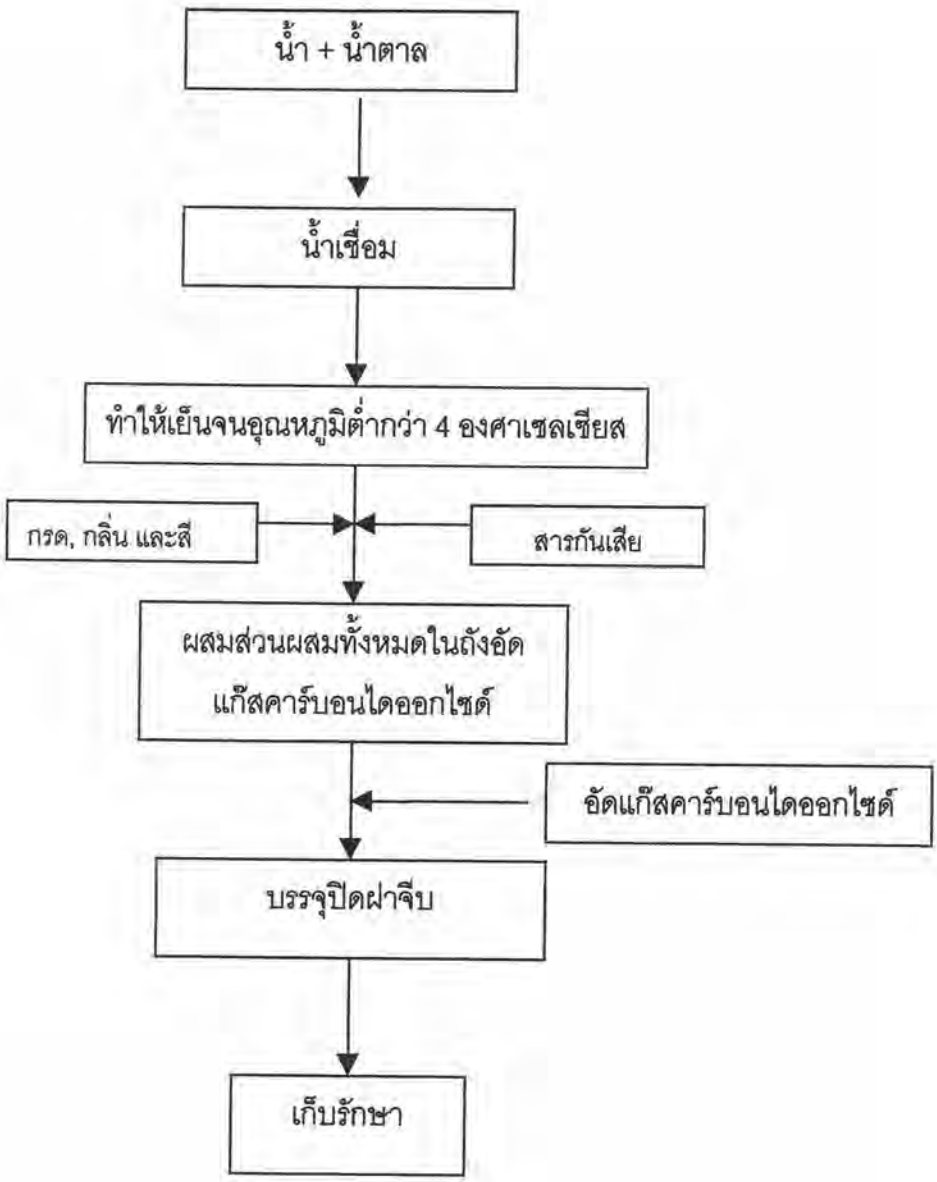
แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจะต้องผสมกันในอัตราส่วนที่เหมาะสม สำหรับวิธีการทั่ว ๆ ไปในการอัดแก๊ส มีอยู่ 2 วิธี คือ

1. วิธี post - mix เป็นวิธีค่อนข้างเก่า การอัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ หลังจากผสมส่วนต่าง ๆ ของเครื่องดื่มเสร็จเรียบร้อยแล้ว น้ำที่ผ่านการ treatment และ หัวน้ำเชื้อที่มีกลิ่นรสผสมแล้ว จะไหลมายังห้องผสม ทำให้เย็นเพื่อลดอุณหภูมิ อัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แล้วจึงบรรจุ ปิดจุก แสดงขั้นตอนการผลิตได้ดังรูปที่ 7



รูปที่ 7 ขั้นตอนการอัดแก๊สโดยวิธี post – mix

2. วิธี pre - mix เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในปัจจุบัน การอัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์หลังการบรรจุส่วนผสมของน้ำและหัวน้ำเชื้อที่มีกลิ่นรสผสมแล้วในขวดที่มีสัดส่วนเหมาะสมแล้วจึงอัดแก๊สลงไปในปริมาตรที่ถูกต้อง แล้วจึงปิดจุกเขย่าให้แก๊สและส่วนผสมเข้ากันให้สม่ำเสมอในเครื่องดื่ม แสดงขั้นตอนการผลิตได้ในรูปที่ 8



รูปที่ 8 ขั้นตอนการอัดแก๊สโดยวิธี pre- mix

ภาชนะบรรจุและการบรรจุผลิตภัณฑ์

ภาชนะบรรจุเครื่องดื่มอัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่นิยมใช้กัน ได้แก่

1. ขวดแก้วที่ผนึกด้วยฝาจีบ (crown cork closure) ซึ่งเหมาะสำหรับบรรจุเครื่องดื่มที่มีปริมาตรบรรจุไม่เกินประมาณ 280 มิลลิลิตร เนื่องจากขวดแก้วมีน้ำหนักมาก โดยจะนำขวดแก้วกลับมาใช้อีก ดังนั้นต้องมีการตรวจสอบคุณภาพ น้ำหนัก ความจุ และความแข็งแรงของเนื้อแก้ว เพราะเมื่อนำใช้ใหม่อาจเกิดการแตกร้าวได้ โดยเฉพาะการผลิตที่มีการบรรจุด้วยความเร็วสูง สิ่งสำคัญขวดแก้วที่ต้องคำนึงถึงเป็นพิเศษ คือ เรื่องความสะอาด ขวดแก้วที่นำกลับมาใช้ใหม่ควรล้างขวดโดยการจุ่มในสารละลายโซดาเข้มข้น 3-4 % ที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส ทั้งภายนอกและภายในเพื่อทำความสะอาด จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาดอีกครั้งก่อนนำมาบรรจุเครื่องดื่ม

2. กระป๋องอลูมิเนียม และขวด PET ปิดผนึกด้วยฝาเกลียว นิยมใช้ในการบรรจุเครื่องดื่มที่มีปริมาตรบรรจุสูงกว่าขวดแก้ว เนื่องจากมีน้ำหนักเบาและสะอาดกว่าขวดแก้ว ไม่มีการนำกลับมาใช้ใหม่ แต่จะมีราคาสูงกว่าขวดแก้ว รวมทั้งปัญหาด้านสภาวะแวดล้อมในการทำลายภาชนะดังกล่าวด้วย

เมื่อบรรจุน้ำอัดลมแล้วจะผ่านเข้าเครื่องปิดฝา ในระหว่างการบรรจุ จะต้องมีการควบคุมคุณภาพของน้ำหวานให้ได้มาตรฐานตลอดเวลา โดยจะวัดความหวาน ปริมาณแก๊ส ปริมาตรการบรรจุ (filling net) ตลอดจนการปิดฝา (crowner) นอกจากนั้นต้องมีการตรวจสอบทางด้านจุลินทรีย์ด้วย เพื่อเป็นการตรวจสอบการล้างทำความสะอาดและการฆ่าเชื้อในขั้นตอนต่าง ๆ

หัวเชื้อน้ำผลไม้สำหรับน้ำผลไม้พร้อมดื่มอัดแก๊ส โดยทั่วไปใช้น้ำผลไม้เข้มข้นในลักษณะของสารให้กลิ่นรสสำหรับเครื่องดื่มน้ำอัดลม ฉะนั้นน้ำผลไม้ต้องมีความสดที่มาจากธรรมชาติ ปกติจะต้องมีการตรวจคุณสมบัติทางด้าน brown color formation และ stability cloud ของหัวเชื้อน้ำผลไม้ ซึ่งโดยทั่วไปจะน้ำผลไม้เข้มข้นจะมีความคงตัวมากกว่าน้ำผลไม้สด นอกจากนั้นยังใช้เนื้อที่ในการเก็บรักษาน้อย และสะดวกในการใช้ภาชนะบรรจุและการขนส่งด้วย