

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สาละเป็นผลไม้ที่จัดอยู่ใน Family Rosaceae , Subfamily Pomoideae และ Genus *Pyrus* ซึ่งมีความใกล้เคียงกับแอปเปิ้ลและควินซ์มาก แบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ สาละยุโรป (European pear) ได้แก่ *Pyrus communis* , *Pyrus nivalis* และ สาละเอเชีย (Asean หรือ Oriental pear) ได้แก่ *Pyrus pyrifolia* , *Pyrus ussuriensis* สาละมีทั้งหมด 23 สายพันธุ์ โดยพบ 3 สายพันธุ์อยู่ในแถบแอฟริกาเหนือ 10 สายพันธุ์ในยุโรป และอีก 10 สายพันธุ์ในเขตเอเชีย-ตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งกระจายอยู่ในประเทศต่าง ๆ ได้แก่ เกาหลี ญี่ปุ่น จีน อินเดีย และปากีสถาน (Westwood , 1978)

2.1 การแบ่งประเภทของสาละ

สาละแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ (สังคม , 2532)

1. สาละยุโรป (European pear) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Pyrus communis* ผลมีเนื้อนุ่มละเอียด คล้ายฝรั่งสุก มีน้ำมาก รสหวาน กลิ่นหอม และแทบจะไม่มี stone cell อยู่ในเนื้อเลย
2. สาละญี่ปุ่น (Japanese pear) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Pyrus serotina* อาจเรียกชื่อว่า Japanese sand pear , Apple pear หรือ Water pear ผลมีรูปร่างกลม เมื่อสุกเนื้อแข็งกรอบไม่ละเอียด และแทบจะไม่มี stone cell อยู่ในเนื้อเลย
3. สาละเอเชียหรือสาละจีน (Oriental pear หรือ Chinese pear) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Pyrus pyrifolia* , *Pyrus ussuriensis* ผลรูปร่างค่อนข้างยาวคล้ายทรงระฆัง

สาละที่มีความสำคัญในเชิงพาณิชย์ของโลก ได้แก่ สาละยุโรป ซึ่งเป็นที่นิยมอย่างมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งในยุโรป อเมริกา และออสเตรเลีย ส่วนสาละเอเชียเป็นที่นิยมอยู่ในแถบประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี และเอเชียอาคเนย์เท่านั้น สาละเอเชียหลายสายพันธุ์ที่สามารถปลูกได้ดีในเขตพื้นที่สูงทางภาคเหนือของประเทศไทย ซึ่งให้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพดี เป็นที่ยอมรับของตลาดภายในประเทศพอสมควร ได้แก่

1. Sung-Mao ลักษณะผลกลม ก้นไม่ลึก จุดประบนผิวไม่มาก ขนาดผลและก้านผลใหญ่ เมื่อสุกผลจะมีสีเหลือง
2. Xiang Sui ผลมีคุณภาพค่อนข้างดี จุดประบนผิวน้อย ก้านผลยาว ก้นผลลึก เมื่อสุกผลจะมีสีเหลือง
3. Yokoyama Wase ผลคล้ายพันธุ์ Xiang Sui มีสีน้ำตาล ค่อนข้างกลม มีขนาดใหญ่ และมีจุดประบนผิวมาก ผลสุกมีสีเหลืองอมเขียว
4. Pien pu ผลมีขนาดใหญ่มาก เป็นรูปเหลี่ยม สีเขียวอมน้ำตาล เมื่อจับจะรู้สึกสากมือ
5. Pathanak ผลมีขนาดค่อนข้างเล็ก รูปร่างยาว ผิวมีจุดประมาก เมื่อจับจะรู้สึกสากมือมาก ผลตกมีความต้านทานต่อโรคดี เป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากประเทศอินเดีย

สายพันธุ์ Pathanak มีช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยวเมื่อมีความแก่สมบูรณ์คือ อายุ 21 สัปดาห์ หลังจากดอกบาน ระยะนี้ผลสายพันธุ์จะมีเปลือกสีเขียวอ่อน มีจุดประมาก รสเปรี้ยวอมหวาน และกลิ่นหอม (สันต์ , 2528) และมีอัตราส่วนของน้ำตาลต่อกรด (Brix/Acid ratio) ต่ำกว่าพันธุ์อื่น ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ค่าวิเคราะห์ทางกายภาพและทางเคมีเพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการเก็บเกี่ยวสายพันธุ์ 5 สายพันธุ์ที่ระยะความแก่สมบูรณ์

สายพันธุ์	ความแน่นเนื้อ (ปอนด์/ตารางนิ้ว)	ปริมาณน้ำตาล (บริกซ์)	ปริมาณกรด (เปอร์เซนต์)	อัตราส่วนของ น้ำตาล/กรด
Sung-Mao	6.4	11.3	0.219	51.6
Pian Pu	10.7	11.0	0.387	28.4
Pathanak	9.6	10.5	0.491	21.4
Xiang-Sui	9.7	9.5	0.164	57.9
Yokoyama Wase	8.7	9.0	0.309	29.1

ที่มา : ปวีณ และ คณะ (2537)

สาเล่จัดเป็นแหล่งอาหารที่มีเส้นใยอาหาร ธาตุโปแตสเซียม และ กรดอินทรีย์ที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ กรดมาลิก ซึ่งมีปริมาณมากที่สุดในสาเล่ กรดซิตริก กรดตาร์ตริก และ กรดออกซาลิก ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ส่วนประกอบทางโภชนาการของผลสาเล่สด Bartlett (100 กรัมของส่วนที่รับประทานได้)

ส่วนประกอบ	ปริมาณ
น้ำ (เปอร์เซ็นต์)	82.70
พลังงาน (กิโลแคลอรี)	264.60
โปรตีน (กรัม)	0.70
ไขมัน (กรัม)	0.40
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	15.80
เส้นใย (กรัม)	1.40
เถ้า (กรัม)	0.40
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	13.00
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	16.00
เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.30
วิตามินเอ (IU)	20.00a
โทอะมีน (มิลลิกรัม)	0.02
ไรโบฟลาวิน (มิลลิกรัม)	0.04
กรดนิโคตินิก (มิลลิกรัม)	0.10
กรดแอสคอร์บิก (มิลลิกรัม)	4.00

หมายเหตุ : a เท่ากับ 6 ไมโครกรัมของ trans-retinol

ที่มา : Macrae และคณะ (1992)

2.2 ขั้นตอนการผลิตน้ำผลไม้ (Cruess , 1958)

1. ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ

1.1 การคัดขนาดและการตรวจสอบ (Sizing and Inspection)

คุณภาพและพันธุ์เป็นสิ่งสำคัญของผลไม้ที่จะนำมาทำน้ำผลไม้ ควรเลือกผลไม้ที่มีกลิ่นและรสชาติ อยู่ในช่วงเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม และควรแยกผลไม้ที่ดีและเสียออกจากกัน เพื่อป้องกันการปนเปื้อนในน้ำผลไม้ Nybom (1962) รายงานว่า ผลไม้ที่มีปริมาณกรดสูงเหมาะสำหรับการผลิตน้ำผลไม้

1.2 การล้างผลไม้ (Washing)

ควรล้างผลไม้ให้สะอาดด้วยการฉีดพ่นด้วยน้ำ หรือการล้างน้ำหลาย ๆ ครั้ง

2. การสกัดน้ำผลไม้ (Juice Extraction)

2.1 การปอกเปลือก

ผลไม้บางชนิดต้องปอกเปลือกหรือขจัดแกนออกก่อนผ่านกระบวนการสกัดน้ำผลไม้ และเมื่อปอกเปลือกแล้วอาจเกิดการเปลี่ยนเป็นสีคล้ำขึ้น ซึ่งป้องกันได้โดยแช่ผลไม้ที่ปอกเปลือกแล้วในน้ำเย็น น้ำเกลือเจือจาง สารละลายกรดซิตริกเจือจาง หรือสารละลายน้ำตาล เพื่อป้องกันไม่ให้ผลไม้ที่สัมผัสกับอากาศโดยตรง

2.2 การตบแต่ง

คือการตัดส่วนที่เน่าเสียและรอยตำหนิออก

2.3 การตีปั่น หรือการบด

การสกัดน้ำผลไม้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของผลไม้ ตำแหน่ง และลักษณะของเนื้อเยื่อที่มีน้ำผลไม้อยู่ รวมทั้งลักษณะของผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ที่ต้องการ การบดทำได้หลายวิธี เช่น การใช้เครื่องบด หรือการใช้มีดสับให้ละเอียดหรือมีขนาดเล็กลง เพื่อเพิ่มผิวหน้าของชิ้นผลไม้ จากนั้นจึงนำเนื้อผลไม้ที่บดแล้วมาคั้นน้ำผลไม้ และอาจเติมเอนไซม์เปกตินเนส เพื่อย่อยเปกตินที่อยู่ตามผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อผลไม้ ทำให้สกัดน้ำผลไม้และสีออกมาได้มากขึ้น เป็นการเพิ่มปริมาณผลผลิตของน้ำผลไม้ให้มากขึ้น

3. การกรอง (Filtration)

น้ำผลไม้ที่สกัดได้ถูกนำมากรองเพื่อแยกกากออกด้วยเครื่องกรอง (plate and frame filter press) ซึ่งประกอบด้วยแผ่นเหล็กปลอดสนิมหลายชั้นประกบกัน แต่ละชั้นจะมีผ้ากรองรองอยู่ น้ำผลไม้จะถูกอัดผ่านผ้ากรอง ทำให้ส่วนของแข็งติดอยู่ที่ผ้ากรอง ส่วนของเหลวจะไหลออกมา บางครั้งอาจมีการเติมสารช่วยกรอง (filter aid) เพื่อช่วยให้การกรองมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

4. การทำน้ำผลไม้ให้ใส (Clarification)

การทำน้ำผลไม้ให้ใสมีหลายวิธี เช่น

4.1 ความร้อน

ความร้อนจะทำให้สารประเภทโปรตีนที่แขวนลอยในน้ำผลไม้ตกตะกอน และสามารถกรองออกได้

4.2 การใช้เอนไซม์

สารประเภทโปรตีน โปรโตเปกติน และแป้ง จะแขวนลอยอยู่ในน้ำผลไม้ เอนไซม์โปรตีเอส เปกติเนส และอะไมเลส จะย่อยสารอินทรีย์เหล่านี้ให้มีขนาดเล็กลง และเปลี่ยนสารอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำให้ละลายน้ำได้ ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้อยู่ในช่วงระหว่าง 0.1 - 1.0 เปอร์เซ็นต์

Tucker และ Woods (1991) พบว่า ที่ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.5 โปรตีนจะมีประจุเป็นบวก ทำให้เอนไซม์เปกติเนสทำงานได้ดี แต่ถ้าความเป็นกรด-ด่างมากกว่า 4.7 การทำให้ใสจะไม่เกิดขึ้น การทำน้ำผลไม้ให้ใสโดยการใช้เอนไซม์เปกติเนสจะบ่มที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หรือบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง อุณหภูมิที่สูงกว่า 50 องศาเซลเซียสไม่สามารถทำได้ เนื่องจากความคงทนของเอนไซม์เปกติเนสจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส โดยเฉพาะเอนไซม์ที่ผลิตจากรา ส่วน Birch และคณะ (1980) รายงานว่า การทำน้ำผลไม้ให้ใสจะใช้เอนไซม์เปกติเนสเพื่อกำจัดเปกติน ทำให้กรดเปกติกตกตะกอนในรูปของเปกเตทที่ไม่ละลายน้ำ แล้วเติมสารช่วยตกตะกอน โดยเฉพาะถ้าเป็นโปรตีนจะขจัดออกโดยการใช้เบนโตนต์

4.3 การใช้สารเคมี สารเคมีที่ใช้ในการตกตะกอน (finning agents) ได้แก่

4.3.1 โซซาว

ใช้ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับความร้อนที่อุณหภูมิ 71 - 80 องศาเซลเซียส เพื่อให้โซซาวรวมตัวกับสารแขวนลอยเกิดการตกตะกอน

4.3.2 เคซีน

นิยมใช้ในรูปของเกลือเคซีน ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ ทิ้งไว้ประมาณ 1 - 2 วัน

4.3.3 เบนโตไนต์

การเตรียมต้องแช่สารเบนโตไนต์ในน้ำ ในอัตราส่วน 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 - 3 วัน จนอิ่มตัว เพื่อให้เบนโตไนต์กระจายตัวได้ดี จึงนำสารแขวนลอยของเบนโตไนต์ไปใช้กรองน้ำผลไม้ ปริมาณ 2 - 3 กรัม/ลิตร อาจใช้ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งจะช่วยให้ตกตะกอนได้เร็วขึ้น

5. การถนอมรักษาน้ำผลไม้ (Preservation)

วิธีการถนอมรักษาน้ำผลไม้ได้แก่

5.1 การใช้ความร้อน

เนื่องจากน้ำผลไม้เป็นอาหารประเภทที่เป็นกรด ซึ่งมีความเป็นกรด-ต่าง (pH) ต่ำกว่า 4.5 ดังนั้นสปอร์ของเชื้อแบคทีเรียที่มีโทษต่อร่างกายไม่สามารถเจริญเติบโตได้ การใช้ความร้อนที่ไม่สูงมากก็เพียงพอต่อการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ การให้ความร้อนเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้แก่ การพาสเจอร์ไรซ์ (pasteurization) เป็นการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพื่อทำลายแบคทีเรีย ยีสต์ และรา สำหรับน้ำผลไม้ที่มีความเป็นกรดสูงอาจใช้อุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรซ์ที่ 71 - 74 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และการให้ความร้อนกับน้ำผลไม้สูงกว่าปกติในระยะเวลาสั้น แล้วทำให้เย็นทันที (flash pasteurization) โดยใช้อุณหภูมิ 88 - 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 - 3 นาที จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกลิ่นรสของน้ำผลไม้ไม่มากนัก

5.2 การใช้สารเคมี ได้แก่ (คิวพร , 2529)

5.2.1 กรดเบนโซอิก และเกลือเบนโซเอท (benzoic acid and benzoates)

มีประสิทธิภาพในการทำละลายและยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือรา และแบคทีเรีย และมีประสิทธิภาพสูงสุดที่ความเป็นกรด-ต่างเท่ากับ 2.0-5.0 เหมาะสำหรับ

อาหารที่มีความเป็นกรดสูง หรือมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ เช่น เครื่องดื่มชนิดที่อัดและไม่อัด ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำหวานชนิดต่าง ๆ น้ำผลไม้ เป็นต้น ปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ในอาหาร ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 คือ ไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร

5.2.2 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และเกลือซัลไฟต์ (sulfurdioxide and sulfites)

ซัลไฟต์ที่นิยมใช้ ได้แก่ โซเดียมซัลไฟต์ โปแตสเซียมซัลไฟต์ โซเดียมไบซัลไฟต์ โปแตสเซียมไบซัลไฟต์ โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ และโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และซัลไฟต์เมื่อละลายน้ำจะได้กรดซัลฟูรัส (H_2SO_3) ไบซัลไฟต์อออน (HSO_3^-) และซัลไฟต์-อออน (SO_3^{2-}) ซึ่งอัตราส่วนที่เกิดขึ้นจะขึ้นกับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหาร ประสิทธิภาพของซัลเฟอร์ไดออกไซด์และซัลไฟต์ขึ้นกับปริมาณกรดซัลฟูรัสที่เกิดขึ้น และต้องอยู่ในรูปที่ไม่แตกตัว ถ้าปริมาณกรดซัลฟูรัสสูง ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ก็จะมากขึ้น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีกว่ายีสต์และรา เหมาะสำหรับอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างต่ำ ปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ได้ ในอาหาร ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 คือ ให้ใช้ในผัก และผลไม้แห้งปริมาณสูงสุดไม่เกิน 2,500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในอาหารชนิดอื่นยกเว้นเนื้อสัตว์ และน้ำตาลทรายปริมาณสูงสุดไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณการใช้ซัลไฟต์ในอาหาร ขึ้นอยู่กับลักษณะการใช้และความต้องการ FDA ได้กำหนดปริมาณสารตกค้างของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ไว้สูงสุดที่ 300 , 500 และ 2,000 มิลลิกรัม/ลิตร ในน้ำผลไม้ มันฝรั่งแห้ง และ ผลไม้แห้ง ตามลำดับ

5.2.3 กรดซอร์บิก และเกลือซอร์เบต (sobic acid and sorbates)

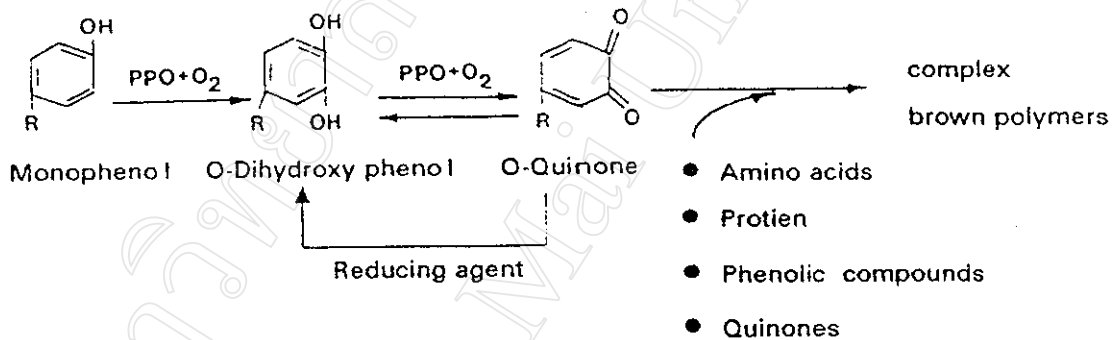
เป็นสารประกอบที่ไม่มีกลิ่น ไม่มีรส และไม่ทำให้กลิ่นและรสของอาหารเปลี่ยนแปลง สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์และราได้ดีกว่าแบคทีเรีย มีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 6.5 เมื่อความเป็นกรด-ด่างของอาหารเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพก็จะลดลงด้วย นิยมใช้ในเครื่องดื่มทั้งชนิดที่อัดและไม่อัด ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำผลไม้ ไวน์ เป็นต้น ปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ในอาหาร ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 84 คือ ไม่เกิน 2,000 มิลลิกรัม/ลิตร

2.3 ปฏิกริยาการเกิดสีน้ำตาล

ผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดมักจะเกิดการเปลี่ยนสีเป็นสีที่เข้มหรือคล้ำมากขึ้น หรือกลายเป็นสีน้ำตาลในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา อันเนื่องมาจากปฏิกริยาการเกิดสีน้ำตาล ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ (ประสาร , 2538)

1. ปฏิกริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ (Enzymatic Browning Reaction)

การเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ เป็นการเปลี่ยนสีที่เป็นผลมาจาก สารประกอบจำพวก โมโนฟีนอล (monophenol) ในพืชหรือสัตว์ ซึ่งอยู่ในสภาพที่มีออกซิเจนและเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenoloxidase ; PPO) สารโมโนฟีนอลถูกเติมหมู่ไฮดรอกซิล แล้วเกิดเป็น สารอโธไดฟีนอล (o-diphenols) ซึ่งจะถูกออกซิไดส์ต่อไปเป็นอโธควิโนน (o-quinones) สารควิโนนที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยนแปลง และทำปฏิกิริยาต่อไปกับสารประกอบฟีนอล กรดอะมิโน และ สารอื่น ๆ โดยไม่ใช้เอนไซม์ แล้วเกิดเป็นสารมีสีที่มีโครงสร้างซับซ้อน ดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 ปฏิกริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์

ที่มา : ประสาร (2538)

เอนไซม์ PPO (EC : 1.14.18.1) ได้แก่ ไทโรซิเนส (tyrosinase) ออโธไดฟีนอล-ออกซิเดส (o-diphenol oxidase) และแคเทคอลลอกซิเดส (catechol oxidase) เป็นต้น ส่วน สารประกอบฟีนอลที่ถูกออกซิไดส์โดยเอนไซม์ PPO ได้แก่ แคเทชิน (catechins) ซินนามิค แอซิด เอสเทอร์ (cinnamic acids esters) 3,4-ไฮดรอกซีฟีนิลอะลานีน (3,4-hydroxyphenylalanine ; DOPA) และไทโรซีน (tyrosine) ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมของ เอนไซม์ PPO อยู่ในช่วงระหว่าง 5.0 - 7.0 เอนไซม์ PPO ค่อนข้างจะไม่ทนความร้อน และสามารถถูกยับยั้งได้ด้วย กรดเฮไลด์ ฟีนอลแอซิด ซัลไฟท์ สารที่จับกับโลหะ (chelating agents) สารรีดิวซ์ (reducing agents) เช่น กรดแอสคอร์บิก สารจับควิโนน (quinone couplers) เช่น ซีสเทอีน (cysteine) การเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์เป็นปัญหาสำคัญที่เกิด

ขึ้นกับอาหารสำคัญหลายชนิด โดยเฉพาะอาหารจำพวกผลไม้ เช่น แอปเปิ้ล สาลี่ ท้อ กล้วย และองุ่น และจำพวกผักได้แก่ มันฝรั่ง เห็ด และผักกาด

Woodroof และ Luh (1975) รายงานว่า ผลสาลี่จะเริ่มมีสีคล้ำขึ้นหลังจากปอกเปลือก เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสในขณะที่มีออกซิเจน ซึ่งป้องกันได้โดยนำผลสาลี่ที่ปอกเปลือกแล้ว แช่ในสารละลายเกลือเข้มข้น 1.0 - 2.0 เปอร์เซ็นต์ หรือ สารละลายกรดซิตริกเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์

Sapers และ Douglas (1987) รายงานว่า การใช้สารละลายกรดซิตริกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่มีกรดแอสคอร์บิกร่วมอยู่ด้วยจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล การใช้กรดแอสคอร์บิกเพียงอย่างเดียว ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO ได้ ส่วนการใช้โปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ปริมาณ 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO ได้อย่างสมบูรณ์

Montgomery และ Petropakis (1980) พบว่า การป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อสาลี่ บดและน้ำสาลี่ทำได้โดย เติมกรดแอสคอร์บิกขณะบดปริมาณ 300 มิลลิกรัม/ลิตร หรือการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ซึ่งเอนไซม์ PPO จะถูกยับยั้งได้โดยความร้อนที่อุณหภูมิ 85 - 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 - 2 นาที

2. ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ (Non-Enzymatic Browning Reaction)

ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ประเภท maillard reaction เกิดจากปฏิกิริยาของหมู่คาร์บอนิลกับหมู่เอมิโนที่เป็นอิสระให้สารสีน้ำตาลของเมลานอยดิน (melanoidin) แม้ว่าการเกิดสีน้ำตาลระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์กับกรดอะมิโนหรือโปรตีน จะมีความสำคัญในผลิตภัณฑ์หลายอย่าง แต่ยังมีปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เป็นผลมาจากการเผาไหม้ของน้ำตาล (caramelization) หรือจากการเสื่อมสลายของกรดแอสคอร์บิก (ascorbic degradation) แล้วเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบคาร์บอนิลโดยผ่านกระบวนการอัลโดลคอนเดนเซชัน (aldol condensation) หรือเกิดปฏิกิริยากับหมู่เอมิโนแล้วเกิดเป็นสารสีน้ำตาล นอกจากนี้ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์จะทำให้เกิดสีที่ไม่ต้องการแล้ว ยังส่งผลให้เกิดการทำลายสารอาหาร เช่น กรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acids) วิตามินซี และทำให้โปรตีนย่อยยาก

Cornwell และ Wrolstad (1981) พบว่า ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลของน้ำสาลี่เข้มข้นในระหว่างการเก็บรักษาเกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์

Rizzi (1994) รายงานว่า ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์จะถูกเร่งให้เกิดเร็วขึ้น เมื่ออุณหภูมิและความเข้มข้นต่างกัน

Ames และคณะ (1994) พบว่า อาหารที่เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ จะมีการเปลี่ยนแปลงของค่าสี L , a* และ b* โดยค่าสี L จะมีค่าลดลง ส่วนค่าสี a* และ b* จะมีค่าเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิ เวลา และ ความเป็นกรด-ด่าง

2.4 สารยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล

1. สารประกอบจำพวกซัลไฟท์

สารประกอบจำพวกซัลไฟท์ได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ โซเดียมซัลไฟท์ โซเดียมไบซัลไฟท์ โปตัสเซียมไบซัลไฟท์ โซเดียมเมตาไบซัลไฟท์ และ โปตัสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ ใช้เป็นสารป้องกันปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลทั้งแบบใช้เอนไซม์และไม่ใช้เอนไซม์ สารควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ สารฟอกสี (bleaching agent) และสารยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) ในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ของสารซัลไฟท์ โดยทำปฏิกิริยากับสารตัวกลางที่มีกลุ่มคาร์บอนิล (carbonyl intermediate) ทำให้ปฏิกิริยาไม่สามารถดำเนินต่อไปได้จนเกิดเป็นสารสีน้ำตาล (ประสาร , 2538)

Woodroof และ Luh (1975) พบว่า วิธีป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในผลไม้ทำได้โดยนำผลไม้มาแช่ในสารละลายกรดซัลฟูรัสที่มีความเข้มข้นของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 2,000 - 4,000 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 2 - 5 นาที หรือแช่ในสารละลายโซเดียมไบซัลไฟท์ที่มีความเข้มข้นของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 2,000 - 3,000 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 1 นาที

Tong และคณะ (1995) พบว่า ผลิตภัณฑ์อาหารที่ไม่มีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจะมีกลิ่นรสและคุณค่าทางโภชนาการที่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค และในปัจจุบันยังไม่มีวิธีใดที่จะป้องกันการเกิดสีน้ำตาลได้โดยเสียค่าใช้จ่ายน้อยที่สุดนอกจากการใช้ซัลไฟท์ ถึงแม้ว่าการใช้สารประกอบซัลไฟท์ในผักและผลไม้จะถูกจำกัด แต่ยังมีค่าใช้จ่ายแพร่หลาย เนื่องจากมีราคาถูกและให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลสูง

2. สูตรที่มีกรดแอสคอร์บิก หรือวิตามินซีเป็นหลัก (ascorbic acid-based formulation)

สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากวิตามินซีสามารถรีดิวซ์สารควิโนนที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารโพลีฟีนอลโดยเอนไซม์ PPO ให้กลับมามีอยู่ในรูปสารประกอบฟีนอลตามเดิม ก่อนที่สารควิโนนจะทำปฏิกิริยาต่อไปจนกลายเป็นสารสีน้ำตาล การเกิดออกซิเดชันของผลไม้ทำให้เกิดการทำลายกลิ่นรส และการเปลี่ยนสี คุณสมบัติการป้องกันการเกิด

ออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิก จะช่วยป้องกันการสูญเสียกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังป้องกันการเกิดสีซีด (fading) และการเปลี่ยนสีอื่น ๆ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของรงควัตถุพวกแคโรทีนและแอนโทไซยานิน โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน (มณฑาทิพย์ , 2539)

3. สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (PPO inhibitors)

ได้แก่ กรดซินนามิก และ กรดเบนโซอิก ซึ่งให้ผลดีมากเมื่อใช้ร่วมกับวิตามินซีในผลิตภัณฑ์น้ำแอปเปิ้ล การใช้สาร 4-เฮกซิลเรซอร์ซินอล (4-hexylresorcinol) เป็นสารยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในกุ้ง และกรดโคจิก (kojic acid) มีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์ PPO โดยรบกวนการรับออกซิเจนของเอนไซม์ PPO และรีดิวซ์สารออกซิไดซ์อินทรีย์เป็นสารฟีนอล จึงไม่มีการสร้างสารสีน้ำตาล (ประสาร , 2538)

4. สารที่ก่อให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน (complexing agent)

ทองแดงเป็นโลหะที่จำเป็นต่อการทำงานของเอนไซม์ PPO ถ้ากำจัดทองแดงออกไป จะยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ สารที่ใช้จับกับโลหะ (chelating agent) ได้แก่ EDTA หรือ ethylenediaminetetraacetic acid ซึ่งมีการใช้ร่วมกับกรดโซเดียมไพโรฟอสเฟต เพื่อควบคุมการเกิดสีคล้ำของมันฝรั่งที่ปอกเปลือกแล้ว (ประสาร , 2538)

5. กรดอะมิโนที่ประกอบด้วยหมู่ซัลไฟด์ไรล (sulfhydryl-containing amino acid)

กรดอะมิโนซิสเตอีน สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO โดยทำปฏิกิริยากับสารควิโนน แล้วเกิดเป็นสารประกอบที่มีความคงตัวและไม่มีสี (ประสาร , 2538)

6. สารยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลชนิดอื่น ๆ (other browning inhibitors)

สารประกอบอนินทรีย์จำพวกเฮไลด์ เช่น โซเดียมคลอไรด์ ซิงค์คลอไรด์ เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล โดยเฉพาะเมื่อใช้ร่วมกับแคลเซียมคลอไรด์ วิตามินซี และกรดซิตริก นอกจากนี้สารเคลือบจำพวกโพลีซัคคาไรด์ที่มีซัลเฟตหลายชนิดได้แก่ คาร์ราจีแนน อะไมโลสซัลเฟต และไซแลนซัลเฟต สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลอย่างมีประสิทธิภาพในผลิตภัณฑ์น้ำแอปเปิ้ลและซันแอปเปิ้ล (ประสาร , 2538)

2.5 เปกติน (Pectin)

ในผักและผลไม้ มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบทางเคมีมากเป็นอันดับสองรองจากน้ำ คาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในรูปโพลีแซคคาไรด์ ได้แก่ แป้ง เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และ เปกติน ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ นอกจากนี้จะอยู่ในรูปของน้ำตาล ซึ่งมีทั้งไดแซคคาไรด์ คือ ซูโครส และโมโนแซคคาไรด์ คือ กลูโคส และ ฟรักโทส ซึ่งละลายอยู่ในส่วนของเหลวในเซลล์ แอปเปิ้ลและสาลี่จัดเป็นผลไม้ที่มีน้ำตาลฟรักโทสมากกว่ากลูโคส การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของผนังเซลล์ มีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเนื้อผลไม้ ผลไม้ดิบจะมีลักษณะเนื้อแข็ง แต่เมื่อสุกจะมีลักษณะเนื้ออ่อนนุ่มลงเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของเปกติน เปกตินเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ซึ่งอยู่ในส่วนของ middle lamella ทำหน้าที่เชื่อมเซลล์ให้ติดกัน (ดนัย , 2534)

2.5.1 สารจำพวกเปกติน ได้แก่ (อรวินท์ และประชา , 2522)

1. กรดเปกติก (pectic acid)

อยู่ที่เนื้อเยื่อของพืชในรูปของเกลือแคลเซียมและแมกนีเซียมเปกเตท (calcium or magnesium pectates) ซึ่งละลายน้ำได้

2. กรดเปกตินิก (pectinic acid)

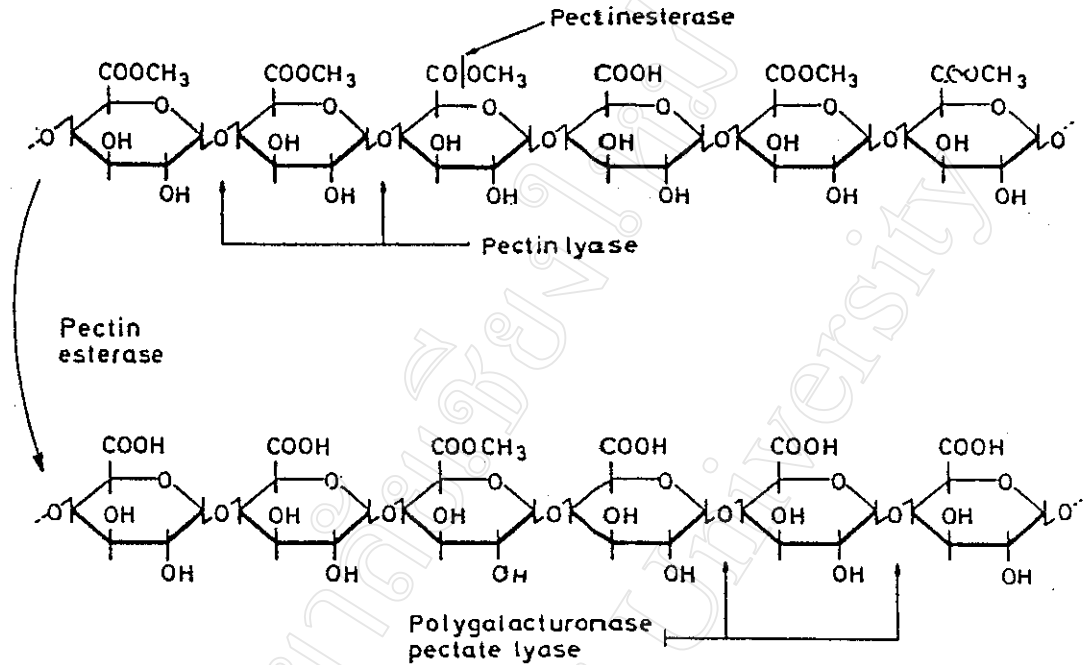
อยู่ในรูปของเกลือแคลเซียมและแมกนีเซียมเปกติน (เปกติน คือ กรดเปกตินิกที่สามารถรวมตัวกับน้ำตาลและกรด แล้วมีลักษณะเป็นเจล) ไม่ละลายน้ำแต่จะกระจายตัวอยู่ในน้ำได้

3. โปรโตเปกติน (protopectin)

เป็นสารจำพวกเปกติกซึ่งไม่ละลายน้ำ พบในเนื้อเยื่อพืชที่ยังอ่อนอยู่โดยเฉพาะในผลไม้ดิบ

2.5.2 สารประกอบเปกติก (Blanshard และ Mitchell , 1979)

โครงสร้างของสารประกอบเปกติกหรือเปกติน ประกอบด้วยสายของ α -1,4-D-galacturonic acids ที่มีบางส่วนถูก esterified ด้วยเมทานอล โครงสร้างนี้จะถูกเรียกว่า “ เปกติน ” เมื่อโมโนเมอร์มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ถูก esterified ด้วยเมทานอล แต่ถ้าถูก esterified ด้วยเมทานอลน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ จะเรียกว่า “ กรดเปกติก หรือ เปกเตท ” ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 ตำแหน่งของโมเลกุลเปกตินและเปกเตทที่ถูกย่อยโดยเอนไซม์เปกตินเนส
ที่มา : Blanshard และ Mitchell (1979)

เมื่อผลไม้สุกโปรโตเปกตินจะสลายตัวกลายเป็นเปกตินและกรดเปกติก ซึ่งละลายได้ในน้ำ โดยกระบวนการ depolymerization และ desterification ซึ่งมีเอนไซม์ polygalacturonase และ pectinesterase ช่วยเร่งปฏิกิริยาการสลายโพลีเมอร์ของโปรโตเปกติน และไฮโดรไลส์หมู่เมธิลออกจากโมเลกุลของเปกติน ได้เป็นกรดเปกติก (ดนัย , 2539)

เปกตินเนสพบได้ในพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ แต่เปกตินเนสที่ได้จากจุลินทรีย์ จะถูกผลิตในปริมาณสูง เนื่องจากมีความสำคัญต่อกระบวนการแปรรูปในอุตสาหกรรมอาหาร สับสเตรทของเอนไซม์ คือ สารประกอบเปกติก เปกตินเนสทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อเยื่อของผักและผลไม้ในระหว่างการเก็บรักษาและแปรรูป

2.6 เอนไซม์เพกตินเนส ประกอบด้วย

1. Pectinesterases (PE ; EC 3.1.1.11)

ทำหน้าที่ย่อยเมทานอลออกจากกลุ่มคาร์บอกซิลที่ถูก esterified และเปลี่ยนจากเพกตินเป็น low methoxyl pectin และ เพกเตท ผลิตได้จากจุลินทรีย์ประเภทราและแบคทีเรีย แต่เอนไซม์ที่ผลิตได้จากราจะมีความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม คือ 4.5 ส่วนเอนไซม์ที่ผลิตจากพืชและแบคทีเรียจะมีความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมอยู่ในช่วงที่มีความเป็นด่าง เอนไซม์จะทำปฏิกิริยาจากทางปลายรีดิวซิง (reducing end) หรือตัดจากส่วนที่มีกลุ่มคาร์บอกซิลอิสระ จากนั้นจึงทำปฏิกิริยาตลอดทั้งโมเลกุล

2. Polygalacturonases (PG ; EC 3.2.1.15 และ 3.2.1.67)

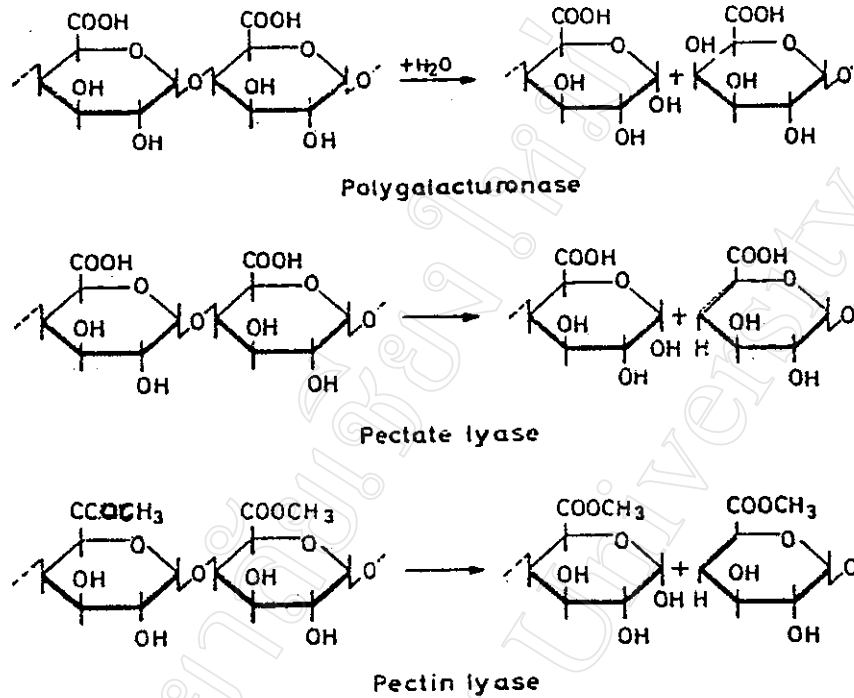
ทำหน้าที่ย่อยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkages) ที่อยู่ใกล้กับกลุ่มคาร์บอกซิลอิสระ (free carboxyl group) โดยมี low methoxyl pectin และเพกเตท เป็นสับสเตรท เอนไซม์ส่วนใหญ่จะผลิตจากรา ยีสต์ และแบคทีเรียบางชนิด และพบมากในพืชชั้นสูง ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมคือ 4.0 - 5.5 เอนไซม์มีทั้งแบบ endo และ exo type เอนไซม์ endo type (EC 3.2.1.15) จะย่อยสายของเพกติกแบบสุ่ม ทำให้ความหนืดลดลงอย่างชัดเจน ส่วน exo type (EC 3.2.1.67) จะย่อยโมโนเมอร์หรือไดเมอร์จากปลาย non-reducing end ซึ่งจะทำความหนืดลดลงอย่างช้า ๆ

3. Pectate Lyases (PAL ; EC 4.2.2.2 และ 4.2.2.9)

ทำหน้าที่ย่อยพันธะไกลโคซิดิก โดยกระบวนการ β -elimination มีทั้ง endo และ exo type สำหรับ exo type (EC 4.2.2.9) มีเพกเตทเป็นสับสเตรทที่ดีที่สุด unsaturated dimer ของเพกเตทจะถูกย่อยออกจากปลายรีดิวซิง ส่วน endo type (EC 4.2.2.2) มี low methoxy pectin เป็นสับสเตรทที่ดีที่สุด ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมอยู่ในช่วงระหว่าง 8.0 - 9.5 ซึ่งไม่ควรนำมาใช้ในกระบวนการแปรรูปผักและผลไม้

4. Pectin lyases (PL ; EC 4.2.2.10)

ทำหน้าที่ย่อยพันธะไกลโคซิดิกที่อยู่ติดกับกลุ่มเมทิลเอสเทอร์ (methyl ester group) โดยกระบวนการ β -elimination สับสเตรทที่เหมาะสมสำหรับ endo type คือ highly esterified pectin เอนไซม์ผลิตได้จากรา มีความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมอยู่ในช่วงระหว่าง 5.0 - 6.0



ภาพที่ 2.3 การย่อยพันธะไกลโคซิดิกโดยการไฮโดรไลส์
ที่มา : Blanshard และ Mitchell (1979)

ตารางที่ 2.3 ประเภทของเอนไซม์เปกตินเนส

Acting on Pectin	
Pectin methylesterases (PME)	
Polymethylgalacturonases (PMG)	Pectin lyases (PL)
Endo - PMG	Endo - PL
Exo - PMG	Exo - PL
Acting on Pectic acid	
Polygalacturonases (PG)	Pectic acid Lyases (PAL)
Endo - PG	Endo - PAL
Exo - PG	Exo - PAL

ที่มา : Furia (1972)

เอนไซม์เปกตินเนสที่ผลิตทางการค้าส่วนใหญ่ได้จากเชื้อ *Aspergillus niger* ซึ่งประกอบด้วย Pectinesterases , Polygalacturonases และ Pectin lyases และบางครั้งอาจมีการเติมเอนไซม์ชนิดอื่นร่วมด้วย เช่น Cellulases , Xylanases , Arabinases , Galactanases , Proteases และบางครั้งอาจเติมเอนไซม์ Amylases ร่วมด้วย เพื่อย่อยแป้งในผลิตภัณฑ์น้ำแอปเปิ้ล

2.7 ประโยชน์ของการใช้เอนไซม์ในผลไม้ คือ (Birch และคณะ , 1980)

1. ขั้นตอนการสกัดน้ำผลไม้ (Mash Treatment)

- 1.1 เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตของน้ำผลไม้ สี และรสชาติ
- 1.2 ทำให้น้ำผลไม้มีลักษณะเหมาะสมต่อการผลิต fruit pulps และ nectars

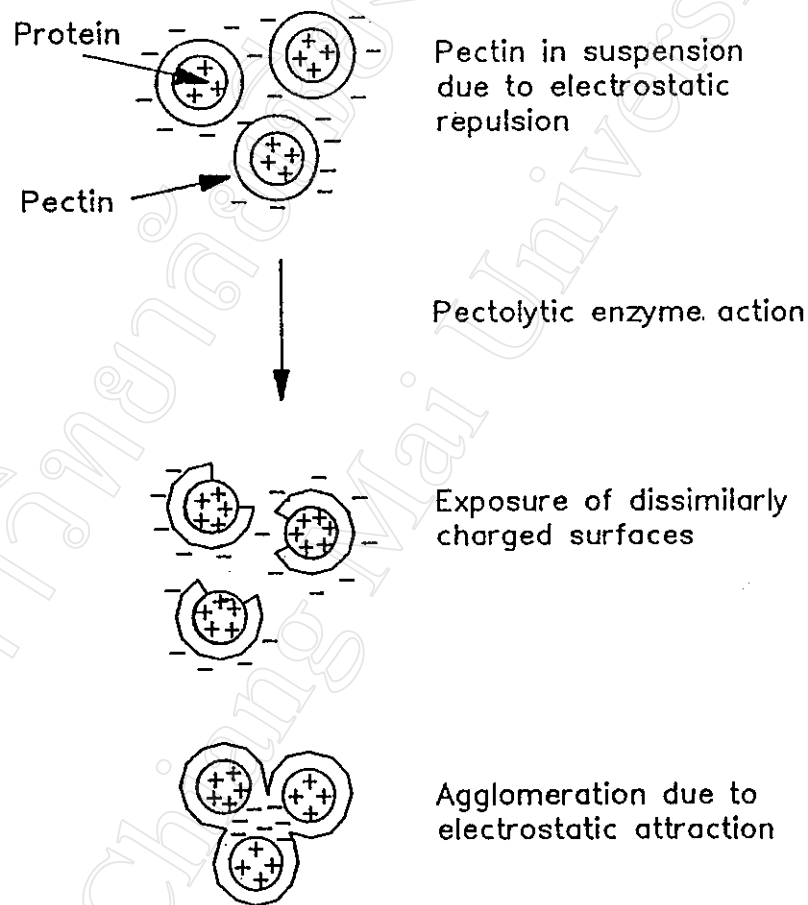
2. ขั้นตอนการทำให้ใส (Juice Treatment)

- 2.1 ช่วยลดความหนืดของน้ำผลไม้
- 2.2 ทำน้ำผลไม้ให้ใส และช่วยให้กรองน้ำผลไม้ได้ง่ายขึ้น

การทำน้ำผลไม้ให้ใส จะต้องขจัดเปกตินหรือสารเปกติกที่แขวนลอยอยู่ในน้ำผลไม้ให้หมดไป แล้วกรองน้ำผลไม้เพื่อขจัดอนุภาคความขุ่นที่เหลืออยู่ ความคงตัวของน้ำผลไม้ใสขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของการสลายพันธะของเปกติน ซึ่งบางครั้งอาจเกิดตะกอนภายหลังการบรรจุที่อุณหภูมิต่ำ ปัญหานี้แก้ไขได้โดยการใช้เอนไซม์ปริมาณมากขึ้น หรือเพิ่มระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาให้นานขึ้น การป้องกันการเกิดความขุ่นอย่างสมบูรณ์ จะต้องสลายพันธะของเปกตินให้อยู่ในรูป oligogalacturonic acids (Birch และคณะ , 1980)

เปกตินมีความสำคัญต่อการผลิตน้ำแอปเปิ้ล น้ำสาลี และ น้ำองุ่น น้ำผลไม้ที่ได้หลังการคั้นจะมีความหนืดเนื่องจากเปกตินที่ละลายอยู่ และมีความขุ่นมาก เปกตินจะทำให้ความหนืดลดลง และขจัดความขุ่นให้หมดไป เนื่องจากอนุภาคความขุ่นจะรวมตัวกันแล้วตกตะกอน หลังจากผ่านการเหวี่ยงหรือกรองจะได้น้ำผลไม้ใส (Birch และคณะ , 1980) อนุภาคความขุ่นของน้ำแอปเปิ้ลประกอบด้วยประจุลบซึ่งมีบางส่วนเป็น demethoxylated pectin ท่อหุ้มโปรตีนแกนกลางที่เป็นประจุบวก การท่อหุ้มของเปกตินกับแกนกลางซึ่งเป็นโปรตีนจะเกิดขึ้นภายในเวลาไม่ถึงหนึ่งนาที่ภายหลังการคั้น อนุภาคนี้มีขนาดเล็กกว่า 1 ไมครอน จึงแขวนลอยอยู่ในน้ำผลไม้ได้ เนื่องจากมีแรง repulsion มากพอที่จะทำให้ไม่ตกตะกอน เอนไซม์ Pectinmethylesterase จะทำหน้าที่ demethylate เปกตินอิสระในน้ำผลไม้ ส่วนเอนไซม์ Polygalacturonase ทำหน้าที่ depolymerize โมเลกุลของเปกติก จึงทำให้ความหนืดของน้ำผลไม้ลดลง แต่ก็ไม่ทำให้เกิดความใส

เนื่องจากอนุภาคมีขนาดเล็กเกินกว่าที่จะตกตะกอน แต่เมื่อใช้เอนไซม์ที่มีส่วนประกอบของทั้ง Pectinmethylesterase และ Polygalacturonase ร่วมกัน เอนไซม์จะย่อยเปกตินที่ห่อหุ้มโปรตีน ส่วนแกนกลางซึ่งเป็นโปรตีนจึงเปิดออก ทำให้เกิด electrostatic ชั้นที่ชั้นเปกตินกับอนุภาคความ ชุ่มที่อยู่โดยรอบ อนุภาคจึงมีขนาดใหญ่ขึ้น และตกตะกอนเนื่องจากแรงดึงดูดของโลก ดังแสดงใน ภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 ขั้นตอนของกลไกการรวมตัวตกตะกอนระหว่างเปกตินและโปรตีนในน้ำแอปเปิ้ล
ที่มา : Blanshard และ Mitchell (1979)

2.8 กลไกของการทำน้ำผลไม้ให้ใส (Mechanism of Clarification) (Birch และคณะ , 1980)

กลไกการทำให้ใสมี 3 ขั้นตอน ได้แก่

1. การย่อยด้วยเอนไซม์ (enzymic hydrolysis)

อนุภาคความขุ่นจะถูก destabilized โดยเปกตินเนส ทำให้ความหนืดของน้ำผลไม้ลดลง

2. การรวมกลุ่ม (coagulation)

ขั้นตอนนี้จะเกิดการจับกันเป็นกลุ่มก้อนของอนุภาคความขุ่นจนมีขนาดใหญ่ขึ้น แล้วตกตะกอน อาจมีการใช้สารช่วยตกตะกอน เพื่อช่วยให้เกิดการรวมตัวและตกตะกอนได้ดีขึ้น

3. การตกตะกอน (sedimentation)

อัตราการตกตะกอนขึ้นอยู่กับขนาดและแรงโน้มถ่วงจำเพาะของกลุ่มอนุภาคความขุ่นในขั้นตอนการจับเป็นกลุ่มก้อน

2.9 วิธีการทำน้ำผลไม้ให้ใส

การทำให้ใสมี 2 วิธี คือ

1. การทำให้ใสที่อุณหภูมิต่ำ (cold clarification)

โดยบ่มเอนไซม์ที่อุณหภูมิต่ำ 15 - 20 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการย่อยเปกติน 6 - 12 ชั่วโมง วิธีนี้เหมาะสำหรับประเทศที่มีอุณหภูมิต่ำ

2. การทำให้ใสที่อุณหภูมิสูง (warm clarification)

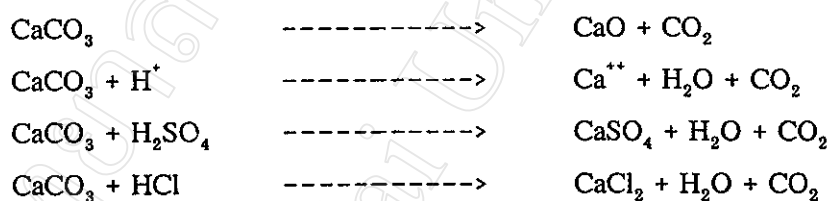
โดยบ่มเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 42 - 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการย่อยเปกติน 3 - 6 ชั่วโมง

2.10 การอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbonation) (ไพโรจน์ , 2535)

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีความสำคัญมากในเครื่องต้มบางประเภท เนื่องจากก๊าซนี้มีผลต่อประสิทธิภาพของการรับรส ทำให้เกิดความรู้สึกซ่า เป็นการกระตุ้นความรู้สึกของผู้บริโภคที่มีต่อเครื่องดื่ม นอกจากนี้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในเครื่องดื่มยังช่วยยืดระยะเวลาในการเก็บรักษา โดยเครื่องดื่มจะปราศจากก๊าซออกซิเจนเนื่องจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาแทนที่ จึงยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโตโดยเฉพาะ

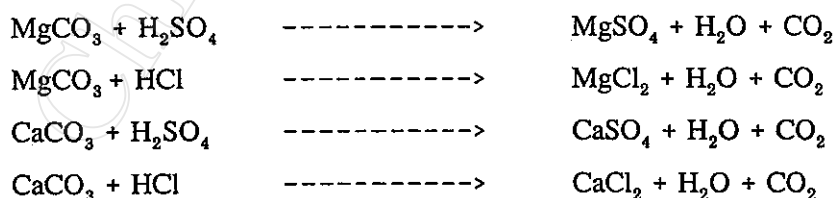
2.10.1 วิธีการเตรียมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ได้แก่

1. การเผาไหม้หรือไฮโดรไลซิสหินอ่อน หรือหินปูน

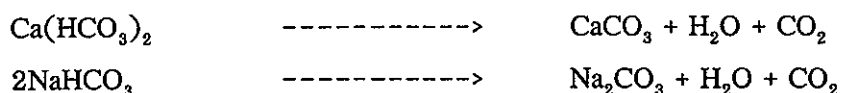


ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สามารถทำให้เป็นของเหลวได้โดยการเพิ่มความดันเป็น 50 เท่าของบรรยากาศ (ประมาณ 735 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) ส่วนการลดอุณหภูมิลงจะทำให้ก๊าซเปลี่ยนเป็นของแข็ง (dry ice)

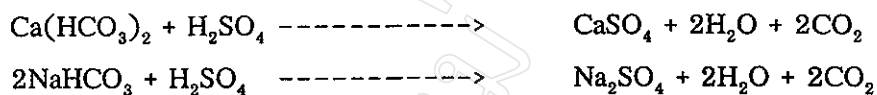
2. การไฮโดรไลซิสสารประเภท dolomite ได้แก่ MgCO_3 และ CaCO_3 เป็นองค์ประกอบ



3. การเผาไหม้สารประเภทไฮโดรเจนคาร์บอเนต เช่น $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ และ NaHCO_3

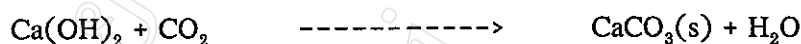


4. การไฮโดรไลซิสสารประเภทไฮโดรเจนคาร์บอเนต เช่น $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ และ NaHCO_3

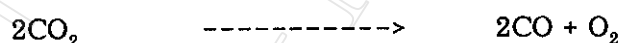


2.10.2 คุณสมบัติของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Jacobs , 1959)

1. ไม่มีสี กลิ่นฉุน มีรสเป็นกรดเล็กน้อย
2. สามารถดับเปลวของกำมะถัน และฟอสฟอรัส
3. ไม่ช่วยในการหายใจ แต่ไม่มีพิษต่อร่างกาย
4. ถ้ามีสารประเภท โปแตสเซียม โซเดียม และ ลิเทียม ติดไฟและมีเปลวไฟอยู่ จะลุกต่อไปได้ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์
5. เมื่อผ่านก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงในน้ำปูนใส ก๊าซจะไม่ละลายในน้ำและจะทำให้ น้ำปูนใสขุ่น



6. เมื่อละลายในน้ำจะได้กรดคาร์บอนิก ซึ่งมีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน รสเปรี้ยวเล็กน้อย
7. ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะสลายตัวที่อุณหภูมิสูง ได้คาร์บอนมอนอกไซด์และออกซิเจน



การละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีหน่วยเป็น “ ปริมาตร ” ซึ่งหนึ่งปริมาตรของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีค่าเท่ากับคาร์บอนไดออกไซด์ 1 มิลลิลิตรต่อปริมาตรน้ำ 1 มิลลิลิตร ที่สภาวะมาตรฐาน คือ ความดันหนึ่งบรรยากาศ และอุณหภูมิ 15.5 องศาเซลเซียส

2.10.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการละลายได้ของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Woodroof และ Phillips , 1974)

1. ความดัน

การละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะเพิ่มขึ้นเมื่อความดันเพิ่มขึ้น ตามกฎของเฮนรี (Henry's Law) กล่าวว่าการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิคงที่ จะขึ้นอยู่กับความดันเพียงอย่างเดียว แต่ต้องไม่มีก๊าซอื่นผสมอยู่ การละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะเท่ากับหนึ่งปริมาตร ที่ความดันหนึ่งบรรยากาศ และอุณหภูมิ 15.5 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างความดัน และ อุณหภูมิ กับปริมาตรของก๊าซคาร์บอน-ไดออกไซด์ที่สามารถละลายได้ใน 1 ปริมาตรของน้ำ

อุณหภูมิ (องศา- ฟาเรนไฮด์)	ความดันภายในขวด (ปอนด์ต่อตารางนิ้ว)										
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
32	1.71	2.9	4.0	5.2	6.3	7.4	8.6	9.7	10.9	12.2	13.4
40	1.45	2.4	3.4	4.3	5.3	6.3	7.3	8.3	9.2	10.3	11.3
50	1.19	2.0	2.8	3.6	4.4	5.2	6.0	6.8	7.6	8.5	9.5
60	1.00	1.7	2.3	3.0	3.7	4.3	5.0	5.7	6.3	7.1	7.8
70	0.85	1.4	2.0	2.5	3.1	3.7	4.2	4.8	5.4	6.1	6.6
80	0.73	1.2	1.7	2.2	2.7	3.2	3.6	4.1	4.6	5.2	5.7
90	0.63	1.0	1.5	1.9	2.3	2.7	3.2	3.6	4.0	4.5	4.9
100	0.56	0.9	1.3	1.7	2.0	2.4	2.8	3.2	3.5	3.9	4.3

ที่มา : Jacobs (1959)

2. อุณหภูมิ

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะละลายได้ดีในน้ำที่มีอุณหภูมิต่ำมากกว่าที่มีอุณหภูมิสูง ถ้าอุณหภูมิสูงการละลายจะน้อยมาก ที่ความดันหนึ่งบรรยากาศ (14.7 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) และอุณหภูมิ 15.5 องศาเซลเซียส ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะละลายในน้ำได้ 1.0 ปริมาตร แต่ที่ความดัน 1 บรรยากาศ อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะละลายได้ 1.7 ปริมาตร

สิ่งที่ควรคำนึงถึงอย่างมากสำหรับการอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ คือ อุณหภูมิของสารละลายที่จะนำมาอัดก๊าซควรอยู่ในช่วงระหว่าง 2 - 5 องศาเซลเซียส (Thorner และ Herzberg , 1970)

ตารางที่ 2.5 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

อุณหภูมิของเครื่องต้ม (องศาฟาเรนไฮต์)	การอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)	การสูญเสียก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ (เปอร์เซ็นต์)
36	100	0
38	96	4
40	92	8
42	88	12
44	84	16
46	81	19
48	78	22
50	75	25
52	72	28
54	69	31

ที่มา : Jacobs (1959)

3. ความเข้มข้นของน้ำตาลในเครื่องต้ม

ซูโครส เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการละลายได้ของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในเครื่องต้ม ถ้าความเข้มข้นของซูโครสสูงการละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะลดลง ที่ระดับความเข้มข้นของซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ การละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะเท่ากับ 0.99 ปริมาตร ที่อุณหภูมิ 15.5 องศาเซลเซียส แต่เมื่อความเข้มข้นของซูโครสเพิ่มเป็น 13 เปอร์เซ็นต์ การละลายของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะเท่ากับ 0.90 ปริมาตร ที่อุณหภูมิเดียวกัน

ตารางที่ 2.6 การละลายได้ของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในสารละลายน้ำตาลที่อุณหภูมิ 15.5 องศาเซลเซียส ความดัน 760 มิลลิเมตรของปรอท

น้ำตาล (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายได้
1.0	0.995
2.0	0.989
3.0	0.982
4.0	0.975
5.0	0.967
6.0	0.959
7.0	0.951
8.0	0.943
9.0	0.936
10.0	0.928
11.0	0.918
12.0	0.907
13.0	0.902

ที่มา : Jacob (1959)

2.10.4 วิธีการอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงในเครื่องดื่ม (ไพโรจน์ , 2535)

วิธีการอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงในเครื่องดื่ม แบ่งออกเป็น 2 วิธี ได้แก่

1. การอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หลังจากผสมส่วนต่าง ๆ ของเครื่องดื่มแล้ว น้ำและน้ำเชื่อมจะไหลมารวมกันที่ห้องผสม ทำให้เย็นลงเพื่อลดอุณหภูมิ จึงอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และบรรจุ
2. การอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หลังจากบรรจุส่วนผสมของน้ำและน้ำเชื่อมลงในขวดที่มีสัดส่วนเหมาะสม อัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในปริมาณที่ถูกต้อง ปิดจุก เขย่าก๊าซและส่วนผสมให้เข้ากัน

2.10.5 ภาชนะบรรจุ

ภาชนะบรรจุแบ่งเป็น 2 ประเภทตามลักษณะใช้งาน คือ

1. ขวดที่ผนึกด้วยฝาจับธรรมดา หรือกระป๋อง สำหรับกรณีที่ใช้แล้ว จะไม่นำกลับมาใช้อีก
2. ขวดแก้วที่ผนึกด้วยฝาจับ (crown cork closure) สำหรับกรณีที่ใช้แล้วสามารถนำกลับมาใช้ได้

2.10.6 การแบ่งประเภทเครื่องดื่มอัดก๊าซ (Ashrae , 1971)

โดยแบ่งตามปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ คือ

1. เครื่องดื่มอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีปริมาณก๊าซมากกว่า 3.5 ปริมาตรขึ้นไป

ได้แก่ ginger ale โคล่า และ เครื่องดื่มประเภทใช้ผสม เช่น club soda และ tonics เป็นต้น

2. เครื่องดื่มอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีปริมาณก๊าซระหว่าง 2.5 - 3.5 ปริมาตร

ได้แก่ เครื่องดื่มประเภท รูทเบียร์ เลมอน มะนาว ครีมโซดา และ เกรฟฟรุต

3. เครื่องดื่มอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีปริมาณก๊าซระหว่าง 1.0 - 2.5 ปริมาตร

ได้แก่ เครื่องดื่มประเภท สตรอเบอร์รี่ เชอร์รี่ องุ่น ส้ม สับปะรด และพีช

ตารางที่ 2.7 การอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในเครื่องตีชนิดต่าง ๆ

กลีณรชของเครื่องตี	ปริมาตรก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
เซอร์รี่	3.0-3.5
อุงุ่น	2.1-2.5
เกรฟฟรุต	3.2-3.5
โคล่า	3.5-3.7
เลมอน	3.5-4.0
เลมอนและมะนาว	3.4-3.7
มะนาว	3.5-4.0
ส้ม	0.9-2.0
สับปะรด	2.1-3.0
ราสเบอร์รี่	3.1-3.5
รูทเบียร์	3.0-3.5
สตรอเบอร์รี่	3.0-3.5

ที่มา : Jacob (1959)

ตารางที่ 2.8 ส่วนประกอบของเครื่องตีอัดก๊าซที่แต่งกลีณรชด้วยผลไม้ชนิดต่าง ๆ

ชนิดของผลไม้	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (ปริกซ์)	ปริมาตรก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์	ปริมาณกรดทั้งหมด (เทียบเป็นกรดซิตริก)	ความเป็นกรด-ด่าง
แอปเปิ้ล	12.0	3.0	0.10	3.7
เซอร์รี่	11.6	2.9	0.09	3.7
อุงุ่น	13.2	2.2	0.10	3.7
อุงุ่น	12.2	2.4	0.10	3.0
พีช	12.8	4.4	0.05	3.0
ราสเบอร์รี่	11.2	2.3	0.10	3.0
สตรอเบอร์รี่	12.0	3.0	0.08	3.0

ที่มา : Jacob (1959)

ตารางที่ 2.9 ส่วนประกอบของเครื่องตีหม้อดักก๊าซผลไม้ที่เป็นที่นิยมทางการค้า

ชนิดของผลไม้	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (บริกซ์)	ปริมาตรก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์	ปริมาณกรดทั้งหมด (เทียบเป็นกรดซิตริก)	ความเป็นกรด-ด่าง
แบล็คเบอร์รี่	13.7	2.6	0.130	2.75
แบล็คเบอร์รี่	12.5	3.0	0.124	3.10
แบล็คเบอร์รี่	12.5	3.0	0.146	3.00
แบล็คเบอร์รี่	13.0	3.0	0.128	3.00
องุ่น	14.5	1.3	0.124	3.10
เลมอนเนด	14.0	1.1	0.302	2.25
เลมอน-มะนาว	8.5	3.8	0.130	2.75
เลมอน-มะนาว	12.6	2.4	0.097	2.95
เลมอน-มะนาว	13.2	3.0	0.347	3.07
มะนาว	13.3	2.6	0.208	2.70
ราสเบอร์รี่	11.0	3.0	0.108	3.40
ราสเบอร์รี่	12.3	3.0	0.134	3.00
Tom Collins	7.4	4.0	0.365	3.20

ที่มา : Jacob (1959)

2.11 การผลิตน้ำผลไม้ใสอัดก๊าซและปัจจัยที่เกี่ยวข้อง

Ronsivalli และ Vieira (1992) รายงานว่า การปอกเปลือกสาลี่ทำได้โดยการใช้เครื่องจักรปอกเปลือก หรือนำผลสาลี่แช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที

Amerine และคณะ (1972) รายงานว่า การปอกเปลือกสาลี่ทำได้โดยการใช้เครื่องจักรหรือการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (lye peelers) และพบว่าการสูญเสียจากขั้นตอนการปอกเปลือกและเอาไส้แกนออกมีประมาณ 30 - 35 เปอร์เซ็นต์ หลังจากปอกเปลือกแล้วสาลี่จะ

เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ซึ่งป้องกันได้โดยแช่ผลสาเกที่ปอกเปลือกแล้วลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1 - 2 เปอร์เซ็นต์ หรือ สารละลายกรดซิตริกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

Cliff และคณะ (1991) รายงานว่า หลังจากบดผลแอปเปิ้ลและคั้นน้ำ โดยปกติจะได้ปริมาณผลผลิตของน้ำแอปเปิ้ล 70 - 80 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/น้ำหนัก) แต่ปริมาณผลผลิตของน้ำแอปเปิ้ลอาจจะลดลงเหลือ 65 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/น้ำหนัก) สำหรับแอปเปิ้ลบ่ม เมื่อเติมเอนไซม์เพกตินเนสลงในน้ำผลไม้ที่คั้นได้ จะทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณแร่ธาตุเพิ่มขึ้น

Wall และคณะ (1996) รายงานว่า การเกิดความขุ่นของน้ำแอปเปิ้ลใสในระหว่างการเก็บรักษา เป็นปัญหาสำคัญทั้งทางด้านเศรษฐกิจและเทคโนโลยี การลดอนุภาคความขุ่นเหล่านี้ทำได้โดย ในขั้นตอนการแปรรูปจะต้องขจัดหรือลดปริมาณโปรตีน โพลีฟีนอล และแป้ง ในน้ำผลไม้ โดยการใช้ความร้อน การกรอง และการใช้สารช่วยตกตะกอน เช่น เบนโตไนต์

Bartolini และ Jen (1990) พบว่า เอนไซม์เพกตินเนสทางการค้าโดยทั่วไป ใช้ในการผลิตน้ำแอปเปิ้ล เพื่อกำจัดเปกตินที่มีอยู่ในน้ำแอปเปิ้ลคั้น และช่วยลดความขุ่นในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้เพกตินเนสยังสามารถย่อยผนังเซลล์ ทำให้ปริมาณผลผลิตของน้ำแอปเปิ้ลเพิ่มขึ้น และได้ทำการทดลองโดยใช้เพกตินเนสในขั้นตอนการสกัดน้ำแอปเปิ้ล (mash treatment) ที่ความเข้มข้นของเพกตินเนส 0.1 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะได้ปริมาณผลผลิตของน้ำแอปเปิ้ลมากที่สุด โดยพบว่า ปริมาณผลผลิตของน้ำแอปเปิ้ลจะเพิ่มขึ้น 12 เปอร์เซ็นต์ คือจาก 66 เปอร์เซ็นต์ เป็น 78 เปอร์เซ็นต์

Khurdiya และคณะ (1996) ศึกษาการทำน้ำฝรั่งอัดก๊าซโดยใช้ฝรั่งพันธุ์ 'Allahabad Safeda' บดด้วยเครื่องบด (crusher) แล้วเติมเอนไซม์เพกตินเนสเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) บ่มเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 - 50 องศาเซลเซียส คั้นน้ำฝรั่งด้วยเครื่องไฮดรอลิก โดยใช้ความดัน 150 กิโลกรัม/ตารางเซนติเมตร น้ำฝรั่งที่ได้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 10.8 บริกซ์ และปริมาณกรดทั้งหมด 0.65 เปอร์เซ็นต์ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 3 - 5 องศาเซลเซียส ปรับให้มีค่า Brix/Acid ratio เท่ากับ 30 , 40 และ 50 ตามลำดับ และอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ความดัน 80 , 100 และ 120 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เติมโซเดียมเบนโซเอทปริมาณ 500 มิลลิกรัม/ลิตร เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 23 - 41 และ 3 - 5 องศาเซลเซียส วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพทางเคมี และทางจุลินทรีย์ โดยใช้วิธี Standard plate count แสดงผลในรูปของ colony forming units ต่อมิลลิลิตร และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้แบบทดสอบ nine - point

hedonic scale โดย 9 เท่ากับ ชอบมากที่สุด และ 1 เท่ากับ ไม่ชอบมากที่สุด ตัวอย่างที่มีคะแนน ตั้งแต่ 5.5 ขึ้นไปจะถูกพิจารณาว่าได้รับการยอมรับ วิเคราะห์ข้อมูลโดย analysis of variance

ผลการทดลองพบว่าน้ำฝรั่งที่มีค่า Brix/Acid ratio เท่ากับ 40 และความดันก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็น 80 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบมากที่สุด ส่วนการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 23 - 41 และ 3 - 5 องศาเซลเซียส ภายในระยะเวลา 3 เดือน พบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิทั้งสองไม่มีการเปลี่ยนแปลง คืออยู่ในช่วงระหว่าง 12.0 - 12.8 บริกซ์ ความเป็นกรด-ด่างจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย คือจาก 2.95 เป็น 3.50 และปริมาณกรดทั้งหมดจะลดลงเล็กน้อย คือจาก 0.34 เปอร์เซ็นต์ เป็น 0.29 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลโดยไมใช่เอนไซม์จะเพิ่มขึ้น ซึ่งเกิดขึ้นกับน้ำฝรั่งอัดก๊าซที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมากกว่าน้ำฝรั่งอัดก๊าซที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลโดยไมใช่เอนไซม์จะเพิ่มขึ้น 1.73 เท่า เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่ำ และจะเพิ่มขึ้น 3.09 เท่า เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้อง แต่อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาทั้งสองอุณหภูมิ ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา 3 เดือน และตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาตรวจสอบไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นน้ำฝรั่งจึงถูกดัดแปลงให้มีน้ำฝรั่ง 40 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 40 บริกซ์ และปริมาณกรดทั้งหมด 1.0 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเติมของผสมดังกล่าวปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วขนาดความจุ 200 มิลลิลิตร จึงเติมน้ำอัดก๊าซที่มีอุณหภูมิ 4 - 6 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 80 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ปิดขวดด้วยฝาจับ แล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

Hsu และคณะ (1990) ทำการทดลองโดยใช้สาส์พันธุ์ d'Anjou , Comice และ Bartlette ทั้งแบบป่มและไม่ป่มเพื่อผลิตน้ำสาส์ใส แนวทางของการทดลองจะมีการใช้และไม่ใช้ซิลเฟอร์ไดออกไซด์ เพื่อศึกษาผลของสายพันธุ์ ความแก่ และกระบวนการผลิต ที่มีต่อการเกิดสีน้ำตาล ความขุ่น โปรตีน และความคงตัวของน้ำสาส์ พบว่า ระดับการเกิดสีน้ำตาลจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการใช้ความร้อน และจะลดลงโดยการใช้ซิลเฟอร์ไดออกไซด์ ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นตามความแก่ของผล และการใช้ความร้อนร่วมกับซิลเฟอร์ไดออกไซด์ ส่วนโปรตีนจากเอนไซม์ที่ใช้ในการทำให้ใสประกอบด้วย arabinase และ amylase ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 64,000 - 92,000 จะมีไกลโคโปรตีนที่ไม่สามารถถูกขจัดออกโดยกระบวนการทำให้ใส จึงทำให้เกิดความไม่คงตัวของโปรตีนในน้ำสาส์ใส แต่สามารถขจัดได้โดยการพาสเจอร์ไรซ์ก่อนนำไปกรองครั้งสุดท้ายและบรรจุ ในระหว่างกระบวนการผลิตและเก็บรักษาของน้ำสาส์ การเกิดสีน้ำตาลและความขุ่นเป็นส่วนสำคัญที่ต้องคำนึงถึง เนื่องจากเป็นตัวจำกัดทางการค้าและเศรษฐกิจ สีน้ำตาลที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตเกิดเนื่องจากเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ส่วนการเสื่อมของสีที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไมใช่เอนไซม์

(maillard reaction) นอกจากนี้โปรตีนที่ละลายน้ำได้จะละลายน้ำได้น้อยลงแล้วเกิดเป็นตะกอน ทำให้คุณภาพและการยอมรับลดลง

การเตรียมน้ำสาหร่าย สาหร่าย 3 สายพันธุ์ ถูกนำมาเก็บ 2 ลักษณะคือ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 1- 2 องศาเซลเซียส และบ่มเก็บไว้ที่ห้องบ่มอุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ความชื้น 90 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ในกระบวนการผลิตใช้สาหร่ายพันธุ์ Comice และ d'Anjou ที่ผ่านการเก็บที่อุณหภูมิ 1- 2 องศาเซลเซียส มาศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการเติมและไม่เติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ การเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ใช้วิธีการฉีดพ่น 1.8 เปอร์เซ็นต์ ของสารละลายโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ลงในผลไม้ขณะบด เติมน้ำตาลละลายเปกตินเนสเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ปริมาณ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 90 นาที คั้นน้ำด้วยเครื่องไฮดรอลิก พาสเจอร์ไรซ์น้ำสาหร่ายที่อุณหภูมิ 85 - 90 องศาเซลเซียส นาน 90 วินาที แล้วทำให้เย็นลงเป็น 40 องศาเซลเซียส เติมนอนไซม์ที่ใช้ทำให้ใสปริมาณ 100 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งประกอบด้วย Rohapect DA1L (เปกตินเนสและอะราบีเนส) และ Rohapect HT Amylase (อะไมเลส) บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนตรวจไม่พบเจลของเปกตินโดยการทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ (Anonymous , 1982) จากนั้นเติมโซเดียมเบนโตไนต์ปริมาณ 500 มิลลิกรัม/ลิตร เจลาติน 100 มิลลิกรัม/ลิตร และซิลิกาซอล 300 มิลลิกรัม/ลิตร คนสม่ำเสมอเป็นเวลา 20 นาที หลังจากทิ้งให้ตกตะกอน 1 คืนที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสแล้ว กรองด้วย Super Cel DE ปริมาณ 0.5 เปอร์เซ็นต์ แบ่งน้ำสาหร่ายออกเป็นสองส่วน ส่วนแรกนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 - 90 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที จัดเป็นน้ำสาหร่ายบรรจุขวด และส่วนที่สองจะถูกทำให้เข้มข้นเป็น 70 บริกซ์ โดยใช้ Rotary Evaporator การวัดระดับการเกิดสีน้ำตาลจะวัดที่ค่าการดูดกลืนแสง 420 นาโนเมตร ส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร จะถูกลบออกจากค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร เพื่อให้ได้ค่าความขุ่นที่ถูกต้อง ผลการทดลองพบว่า กระบวนการผลิตที่เติมและไม่เติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะไม่มีผลต่อความขุ่น แต่การเกิดสีน้ำตาลจะลดลงเมื่อเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ซึ่งใช้ป้องกันทั้งการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์และไม่ใช้เอนไซม์ น้ำสาหร่ายจะใสหลังจากเติมน้ำตาลช่วยตกตะกอนและกรองแล้ว น้ำสาหร่ายทุกตัวอย่างจะใส แต่จะมีตะกอนเกิดขึ้นเล็กน้อยหลังจากการพาสเจอร์ไรซ์ และจะเกิดตะกอนปานกลางถึงมากสำหรับน้ำสาหร่ายที่เจือจางจากน้ำสาหร่ายเข้มข้น การเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรตีนในน้ำสาหร่ายคั้นจะแปรผันโดยตรงกับความแก่ของผลไม้และการใช้ความร้อนร่วมกับซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ส่วนการให้ความร้อนจะทำให้ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำสาหร่ายเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากการสกัดโปรตีนออกจากผนังเซลล์ หรือเหนียวทำให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบระหว่างโปรตีนและฟีนอล จึงตรวจพบปริมาณโปรตีนมากกว่าปกติ สารช่วยตกตะกอนและการกรองจะช่วยลดปริมาณโปรตีนได้ 5 - 23 มิลลิกรัม/ลิตร ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ความแก่ และกระบวนการผลิต การพาสเจอร์ไรซ์ครั้งที่สองทำให้ปริมาณโปรตีนลดลง เนื่องจากการเสียรูปของโปรตีนแล้วตกตะกอน ด้วยเหตุนี้จึงเกิดตะกอนเล็กน้อยขึ้นในน้ำสาหร่าย ดังแสดงในตารางที่ 2.10 และ 2.11

ตารางที่ 2.10 ผลของสายพันธุ์ ความแก่ และกระบวนการผลิต ที่มีต่อความขุ่นของน้ำสาลี

ตัวอย่าง น้ำสาลี	Press juice	HTST- treated	Enzyme- treated	Fined/ filtered	Bottled	Reconstituted
d'Anjou						
Hard green (-SO ₂)	76.5(+++)	88.7(++++)	90.1(++++)	0.1(-)	0.7(+ -)	18.3(++)
Hard green (+SO ₂)	97.5(++++)	99.2(++++)	99.2(++++)	0.0(-)	0.6(+ -)	26.9(++)
Soft ripen (-SO ₂)	86.7(++++)	85.2(++++)	90.0(++++)	0.0(-)	0.8(+ -)	76.8(+++)
Comice						
Hard green (-SO ₂)	84.1(++++)	92.9(++++)	94.5(++++)	0.0(-)	0.9(+ -)	15.0(++)
Hard green (+SO ₂)	97.7(++++)	98.7(++++)	99.3(++++)	0.4(-)	1.4(+ -)	21.1(++)
Soft ripen (-SO ₂)	87.3(++++)	88.8(++++)	92.4(++++)	0.0(-)	2.0(+ -)	66.5(+++)
Bartlett						
Hard green (-SO ₂)	99.9(++++)	99.0(++++)	99.4(++++)	0.1(-)	2.2(+ -)	46.0(+++)
Soft ripen (-SO ₂)	98.6(++++)	99.2(++++)	99.3(++++)	0.1(-)	2.7(+ -)	83.0(++++)

หมายเหตุ : (-) = ใส (+ -) = มีตะกอนน้อยมากมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า (+) = มีตะกอนเล็กน้อย
(++) = มีตะกอนปานกลาง (+++) = มีตะกอนมาก (++++) = มีตะกอนมากที่สุด

ที่มา : Hsu และคณะ (1990)

ตารางที่ 2.11 ผลของสายพันธุ์ ความแก่ และกระบวนการผลิต ที่มีต่อปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำสาลี

ตัวอย่างน้ำสาลี	Press juice	HTST-treated	Enzyme-treated	Fined/filtered	Bottled	Reconstituted
d'Anjou						
Hard green (-SO ₂)	6.8 ± 0.2	11.1 ± 1.3	11.9 ± 0.2	7.0 ± 0.4	0.5 ± 0.3	7.9 ± 0.1
Hard green (+SO ₂)	11.9 ± 0.2	27.5 ± 0.9	33.3 ± 0.1	10.7 ± 0.3	5.1 ± 0.4	15.8 ± 1.2
Soft ripen (-SO ₂)	19.2 ± 0.5	36.5 ± 0.2	10.2 ± 1.2	5.4 ± 0.2	0.0 ± 0.0	6.0 ± 0.1
Comice						
Hard green (-SO ₂)	12.2 ± 0.5	27.4 ± 0.4	24.6 ± 0.4	5.2 ± 0.4	0.1 ± 0.1	6.1 ± 0.3
Hard green (+SO ₂)	22.1 ± 0.5	52.5 ± 1.4	42.1 ± 0.2	20.3 ± 0.1	18.5 ± 0.5	23.7 ± 0.6
Soft ripen (-SO ₂)	45.0 ± 0.4	46.6 ± 0.9	18.9 ± 2.6	10.6 ± 0.1	6.4 ± 0.8	10.4 ± 0.4
Bartlett						
Hard green (-SO ₂)	31.1 ± 0.6	23.3 ± 0.5	16.1 ± 0.7	8.9 ± 1.7	6.5 ± 1.0	14.0 ± 3.4
Soft ripen (-SO ₂)	29.6 ± 0.5	37.5 ± 0.6	27.8 ± 1.6	10.2 ± 0.5	4.2 ± 0.4	11.7 ± 0.3

ที่มา : Hsu และคณะ (1990)

McLellan และคณะ (1984) ทำการศึกษาทดลองทำน้ำแอปเปิ้ลอัดก๊าซและทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยนำน้ำแอปเปิ้ลที่คั้นได้มาทำให้ใสโดยใช้เอนไซม์เพกตินเนส บ่มเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 49 องศาเซลเซียส ทำให้เย็นลงแล้วกรองด้วย plate and flame filter เติมน้ำดื่มเบนโซเอทปริมาณ 500 มิลลิกรัม/ลิตร เก็บน้ำแอปเปิ้ลที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส จนกว่าจะอัดก๊าซ น้ำแอปเปิ้ลที่กรองได้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 12.8 บริกซ์ ปริมาณ

กรดทั้งหมด 0.39 เปอร์เซ็นต์ (เทียบเป็นกรดมาลิก) และมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.72 ปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำแอปเปิ้ลให้อยู่ในช่วงระหว่าง 8 - 14 บริกซ์ ด้วยซูโครส ถ้าลดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (บริกซ์) จะปรับด้วยสารละลายบัฟเฟอร์กรดมาลิก ช่วงของระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ใช้คือ 0 - 4 ปริมาตร (Phillips และ Woodroof , 1981) รักษาอุณหภูมิของน้ำแอปเปิ้ลที่ 0 องศาเซลเซียส ขณะอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และบรรจุขวดที่ใช้บรรจุจะต้องแห้งและมีอุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส ก่อนบรรจุ ปิดขวดด้วยฝาจับ

การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส ตัวอย่างจะถูกชิมโดยผู้ทดสอบจำนวน 8 คน ด้วยแบบทดสอบ Quantitative Descriptive Analysis (Stone และคณะ , 1974) โดยทดสอบคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์คือ กลิ่น รสชาติ ความหวาน ความเปรี้ยว ความรู้สึกในปาก ระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และการยอมรับโดยรวม การทดสอบชิมจะจัดในที่ที่มีแสงเพียงพอ ใช้ตัวอย่างน้ำแอปเปิ้ลปริมาตร 80 มิลลิลิตร ใส่ในแก้วใส ชิมครั้งละสามตัวอย่าง โดยใส่รหัสที่มีตัวเลข 3 ตัวแบบสุ่ม และเตรียมน้ำเปล่าสำหรับผู้ทดสอบขณะชิม

ผลการทดลองพบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและระดับก๊าซไม่มีผลต่อกลิ่นรสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จะมีผลต่อความเปรี้ยวและความรู้สึกในปากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ความเปรี้ยวของน้ำแอปเปิ้ลอัดก๊าซเพิ่มขึ้นเมื่อระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น และคนส่วนใหญ่ยอมรับน้ำแอปเปิ้ลอัดก๊าซมากกว่าน้ำแอปเปิ้ลที่ไม่อัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

Bright และ Potter (1979) ได้ศึกษาอายุการเก็บรักษาของน้ำแอปเปิ้ลอัดก๊าซ โดยนำน้ำแอปเปิ้ลเข้มข้นมาเจือจางให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 13.5 เปอร์เซ็นต์ ด้วยน้ำหรือน้ำอัดก๊าซ เติมกรดแอสคอร์บิกปริมาณ 400 มิลลิกรัม/ลิตร แล้วอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยเครื่อง Zahm Pilot Plant Carobnater and Filler ให้มีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 1.8 ± 0.3 ปริมาตร ปิดขวดด้วยฝาจับ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63 - 64 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส แล้วนำไปแช่เย็น และศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 18 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 7 , 22 และ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์คุณภาพที่สัปดาห์ที่ 0 , 3 , 8 , 12 และ 18 ตามลำดับ

การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส ตัวอย่างจะถูกชิมโดยผู้ทดสอบจำนวน 8 - 10 คน โดยใช้แบบทดสอบ nine-point hedonic scale ที่ทดสอบลักษณะของผลิตภัณฑ์คือ ลักษณะปรากฏ รสชาติ และการยอมรับโดยรวม

ผลการทดลองพบว่า ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นระยะเวลา 18 สัปดาห์ ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อ-

มัน 95 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อความเป็นกรด-ต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำแอปเปิ้ลอัดก๊าซจะมากกว่าน้ำแอปเปิ้ลที่ไม่อัดก๊าซ ระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดน้อยมาก แต่อุณหภูมิในการเก็บรักษาไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด ค่าสี L และ b* มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยตามระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษา ส่วนค่าสี a* มีการเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาในการเก็บรักษา

Dawes และคณะ (1994) ทำการศึกษาผลของปริมาณเอนไซม์และอุณหภูมิที่มีต่อการลดลงของโปรตีนที่ทนความร้อนและคงตัวในน้ำกีวี โดยนำน้ำกีวีที่ได้จากการบดผลกีวี (*Actinidia deliciosa*) และเติมเอนไซม์เปกตินเนสปริมาณ 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เติมเส้นใยเซลลูโลส (cellulose fibers 2 เปอร์เซ็นต์) แล้วกรองด้วยผ้า ให้ความร้อนแก่น้ำผลไม้ที่กรองได้ที่อุณหภูมิ 90 - 92 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ฆ่าจุลินทรีย์ และช่วยตกตะกอนโปรตีนที่ละลายน้ำและทนความร้อน ในขั้นตอนการทำให้ใสจะใช้เอนไซม์ปริมาณ 150 มิลลิกรัม/ลิตร เติมโซเดียมเบนโตเนต 5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เพื่อดูดซับและกำจัดโปรตีนในน้ำกีวี คนเป็นเวลา 15 นาที มาตรฐานในหลอดทดลองหลอดละ 5 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 30 , 45 และ 60 องศาเซลเซียส และเติมเอนไซม์ความเข้มข้น 100 , 300 และ 500 มิลลิกรัม/ลิตร เก็บตัวอย่างทุก ๆ 5 นาที ในช่วงแรก และทุก 15 นาที ในช่วงที่ 2 และ 3 ตัวอย่างจะถูกทำให้ร้อนเป็น 100 องศาเซลเซียส นาน 2.5 นาที เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เปกตินเนส

จากผลการทดลองพบว่า น้ำกีวีที่เติมเอนไซม์ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 และ 60 นาที จะลดปริมาณโปรตีนลงได้ 73 และ 82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Cometto - Muniz และคณะ (1987) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง oral pungency จากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับความหวานจากซูโครส ความเปรี้ยวจากกรดตาร์ตริก ความเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ และความขมจากควินินซัลเฟต พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างความหวานจากซูโครสกับ oral pungency จากคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนความเปรี้ยวของกรดตาร์ตริก และความเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ จะทำให้ oral pungency จากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น และพบว่าในที่มีปริมาณเกลือเพียง 0.4 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะทำให้การรับรสเค็มของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าสารที่มีคุณสมบัติต่างกัน ถึง

แม้จะให้รสชาติเดียวกัน เช่น กรดซิตริกและกรดฟอสฟอริก ซูโครสกับแอสปาแตม จะทำให้ปฏิกิริยาที่มีต่อก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แตกต่างกัน

Yau และ McDaniel (1992) ศึกษาผลของระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีต่อความหวาน ความเปรี้ยว และผลของสารให้ความหวานและรสเปรี้ยวที่มีต่อ carbonation perception โดยใช้สารให้ความหวานสองชนิดคือซูโครสความเข้มข้น 2 - 16 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) แอสปาแตมความเข้มข้น 0.015 - 0.12 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) และสารให้ความเปรี้ยว 2 ชนิด คือ กรดซิตริกความเข้มข้น 0.02 - 0.29 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) กรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 0.015 - 0.06 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร)

การทดลองใช้ความเข้มข้นของซูโครส 2 , 4 , 8 และ 16 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ความเข้มข้นของแอสปาแตม 0.015 , 0.03 , 0.06 และ 0.12 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ความเข้มข้นของกรดซิตริก 0.02 , 0.048 , 0.12 และ 0.29 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) และสารละลาย 75 เปอร์เซ็นต์ ของกรดฟอสฟอริก 0.015 , 0.024 , 0.038 และ 0.06 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ตัวอย่างที่ไม่อัดก๊าซจะถูกเก็บไว้ในฟลาสก์ สำหรับตัวอย่างที่อัดก๊าซ สารละลายของสารให้ความหวาน (หรือกรด) อย่างละ 7.5 ลิตร จะถูกนำไปอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้ปริมาตรก๊าซ 2 ระดับ คือ 2.0 และ 3.0 ปริมาตร แล้วบรรจุในขวดแก้วปริมาตร 355 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 - 3 สัปดาห์

ระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะถูกวัดที่อุณหภูมิ 3 และ 12 องศาเซลเซียส โดยใช้ Zahm and Nagel Piercing Device และแสดงออกมาในรูปของปริมาตรก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อปริมาตรน้ำ

การทดสอบทางประสาทสัมผัสจะใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 9 คน ตัวอย่างจะถูกเสิร์ฟในถ้วยที่บดแสงที่มีปริมาตรบรรจุ 60 มิลลิลิตร และมีปริมาตรตัวอย่าง 40 - 50 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 9 - 12 องศาเซลเซียส การชิมให้ผู้ชิมอมตัวอย่างไว้ในปากนาน 3 - 5 วินาที จึงประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัส

เมื่อวิเคราะห์ผลโดยวิธี analysis of variance พบว่า ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไม่มีผลต่อความหวานสำหรับสารให้ความหวานทั้งสอง และความหวานจะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสารให้ความหวานเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะมีผลต่อ carbonation perception ของสารให้ความหวานทั้งสองชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99.9 เปอร์เซ็นต์ โดย carbonation perception ที่ระดับก๊าซ 3.0 ปริมาตร จะมากกว่าที่ระดับก๊าซ 2.0 ปริมาตร ถึง 2.5 เท่า สำหรับซูโครส ส่วนผลของระดับสารให้ความหวานต่อระดับก๊าซคือ carbonation

intensity ที่ระดับก๊าซ 2.0 ปริมาตร และซูโครสเข้มข้น 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) จะมากกว่าที่ซูโครสเข้มข้น 16 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับก๊าซ 3.0 ปริมาตร เฉพาะซูโครสเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นที่มี carbonation intensity มากกว่าซูโครสที่ระดับ 16 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นความเข้มข้นของซูโครสในช่วง 3 - 12 เปอร์เซ็นต์ จะถูกใช้ในงานวิจัยทั่วไป แต่ที่ความเข้มข้นของซูโครส 16 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับสูงสุดที่ใช้ในงานวิจัยปัจจุบัน การลดลงของ carbonation intensity อาจเกิดเนื่องจากความหนืดของซูโครส หรือผู้ทดสอบชิมอาจจะไขว่เขวจากตัวอย่างที่มีความหวานสูง ระดับก๊าซมีผลเล็กน้อยต่อความหวาน สำหรับสารให้ความหวานทั้ง 2 ชนิด ซูโครสเข้มข้น 16 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) จะทำให้ carbonation perception ลดลง

ผลของการอัดก๊าซที่มีต่อความเปรี้ยว ความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างกรดซิตริกอยู่ในช่วง 2.5 - 3.3 และกรดฟอสฟอริกอยู่ในช่วง 2.2 - 2.7 การอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะไม่เปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แม้ว่าระดับก๊าซจะไม่มีผลต่อความเปรี้ยวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ความเปรี้ยวของตัวอย่างที่อัดก๊าซจะมากกว่าตัวอย่างที่ไม่อัดก๊าซที่ระดับกรดต่ำ เช่นตัวอย่างที่ระดับกรดซิตริก 0.02 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 3.0 ปริมาตร จะมีความเปรี้ยวมากกว่าตัวอย่างที่มีระดับก๊าซ 2.0 ปริมาตร ถึง 1.5 เท่า และมากกว่าตัวอย่างที่ไม่อัดก๊าซเป็น 2.2 เท่า ตัวอย่างที่มีปริมาตรก๊าซ 3.0 ปริมาตร จึงมีความเปรี้ยวมากกว่าตัวอย่างที่ไม่อัดก๊าซ 3.3 เท่า สำหรับตัวอย่างกรดที่มีความเข้มข้น 0.048 เปอร์เซ็นต์ ความเปรี้ยวจะไม่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างที่อัดก๊าซที่ระดับ 2.0 และ 3.0 ปริมาตร แต่จะมากกว่าตัวอย่างที่ไม่อัดก๊าซถึง 1.6 เท่า ส่วนตัวอย่างที่มีกรดซิตริกที่ระดับ 0.12 เปอร์เซ็นต์ และระดับก๊าซ 3.0 ปริมาตร จะมีความเปรี้ยวมากกว่าตัวอย่างที่ไม่อัดก๊าซ 1.4 เท่า ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะทำให้ความเปรี้ยวเพิ่มขึ้นที่ระดับกรดต่ำ แต่จะไม่มีผลที่ระดับกรดสูง เมื่อใช้กรดทั้งสองชนิด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ McLellan และคณะ (1984) ที่พบว่าความเปรี้ยวของน้ำแอปเปิ้ลจะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น และ Cometto - Munizet และคณะ (1987) ที่พบว่า oral pungency จะทำให้ความเปรี้ยวเพิ่มขึ้นสำหรับกรดตาร์ทาริกที่ระดับ 0.3 - 1.2 เปอร์เซ็นต์

ปฏิกิริยาของรสชาติและระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์พบว่า ระดับก๊าซมีผลต่อความเปรี้ยวมากกว่าความหวาน ส่วนประกอบของความรู้สึกในปาก เช่น รสซ่า (tingle) แสบ (bite) ร้อน (burn) และชา (numbing) ถ้าระดับก๊าซสูง และอาจทำให้เกิดความเจ็บปวดขึ้น ความเปรี้ยวเกิดจากกรดคาร์บอนิกเมื่อน้ำถูกอัดก๊าซ ความรู้สึกถึงรสเปรี้ยวในตัวอย่างที่อัดก๊าซมากกว่าตัวอย่างที่ไม่อัดก๊าซ

Chang และคณะ (1994) ทำการทดลองสกัดน้ำผลไม้โดยบดผลไม้แล้วเติมเอนไซม์เปกตินเนสเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 49 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง คั้นน้ำและเติมสารละลายเบนโทไนต์ในรูปของโซเดียมเบนโทไนต์ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายเจลาติน 1.0 เปอร์เซ็นต์ เติมน้ำผลไม้ให้มีปริมาณ 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เพื่อช่วยให้น้ำผลไม้ ทั้งไว้หนึ่งคืนที่อุณหภูมิ 2 - 3 องศาเซลเซียส กรองแล้วนำไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วินาที

สีจะถูกวัดโดยเครื่อง Hunter Color Difference Meter โดยมีสัญลักษณ์ต่าง ๆ คือ

L* = ความมืดและความสว่าง

+a* = สีแดง

-a* = สีเขียว

+b* = สีเหลือง

-b* = สีน้ำเงิน

b*/a* = Hue Angle

Rathburn และ Morris (1990) ทำการทดลองผลิตน้ำองุ่นอัดก๊าซจากองุ่น 5 สายพันธุ์ คือ Concord และ Chelois ซึ่งเป็นสายพันธุ์องุ่นแดง ส่วน Niagara , Vidal และ White Riesling ซึ่งเป็นสายพันธุ์องุ่นขาว องุ่นแต่ละสายพันธุ์ปริมาณ 130 กิโลกรัม จะถูกเด็ดก้านและบด แล้วเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในรูปของโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ปริมาณ 100 มิลลิกรัม/ลิตร เติมเอนไซม์เปกตินเนสที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/1,000 กิโลกรัม ผสมให้เข้ากันดี บ่มเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วคั้นด้วยเครื่อง Willmes Bladder Type Press เก็บรักษา น้ำองุ่นที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อตกตะกอนของแข็งที่ไม่ละลายน้ำ กรองน้ำองุ่นที่ได้ด้วย Romicon Hollow Fiber Filter Model HF1-0-43 PM 100 เติมโปแตสเซียมซอร์เบทปริมาณ 185 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ การปรับน้ำตาลและกรดทำได้โดย นำน้ำองุ่นที่ได้จากองุ่นแต่ละสายพันธุ์ปริมาตร 19 ลิตร แบ่งออกเป็น 2 ชุด แต่ละชุดจะถูกปรับให้มีค่า Brix/Acid ratio อยู่ในช่วงระหว่าง 23.0 - 26.0 ถ้าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่ำกว่า 18 บริกซ์ จะเติม high fructose corn syrup และถ้าปริมาณกรดทั้งหมดต่ำกว่า 0.75 เปอร์เซ็นต์ จะเติมกรดซิตริกจนมีปริมาณกรดทั้งหมดประมาณ 0.75 เปอร์เซ็นต์ น้ำองุ่นที่ได้จากแต่ละชุดการทดลอง ถูกบรรจุลงในขวดที่มีปริมาตร 350 มิลลิเมตร แบ่งเก็บไว้ 6 ขวด ส่วนที่เหลือจะถูกอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 3.0 ปริมาตร

การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำองุ่นอัดก๊าซจะต้องใส่ก๊าซออกก่อนวิเคราะห์ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะถูกวัดด้วย Reichert Abbe Mark II Refractometer ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่างจะถูกวัดด้วย Orion Combination Electrode pH Meter ปริมาณกรดทั้งหมดวัดโดย เจือจาง

น้ำผลไม้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น 125 มิลลิลิตร แล้วไตเตรตด้วยสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนมีความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8.2 ปริมาณกรดทั้งหมดจะเทียบเป็นกรดตาร์ทาริก

ผลการทดลองพบว่า น้ำองุ่นจากองุ่นทุกสายพันธุ์จะเป็นที่ยอมรับมากจากผู้ทดสอบ โดยเฉพาะค่า Brix/Acid ratio มีความสำคัญต่อการยอมรับของผู้ทดสอบชิม และผู้ทดสอบชิมมีความชอบต่อน้ำองุ่นอัดก๊าซมากกว่าน้ำองุ่นที่ไม่อัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำองุ่นอัดก๊าซจากองุ่นแต่ละสายพันธุ์ มีระดับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณกรดทั้งหมด และค่า Brix/Acid ratio ดังตารางที่ 2.12

ตารางที่ 2.12 ค่า Brix/Acid ratio ของน้ำองุ่นอัดก๊าซแต่ละสายพันธุ์

องุ่นสายพันธุ์	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด	ปริมาณกรดทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์กรดตาร์ทาริก)	Brix/Acid ratio
Niagara	17.2	0.62	27.74
Vidal	17.3	0.65	26.62
Riesling	17.2	0.64	26.88
Concord	18.3	0.60	30.50
Chelois	18.9	0.68	27.79

ที่มา : Rathburn และ Morris (1990)

2.12 การตรวจสอบอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ (Woodroof และ Phillips, 1974)

โดยปกติเครื่องดื่มจะเกิดการเสื่อมเสียตามระยะเวลาในการเก็บรักษา อัตราการเสื่อมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เช่น สี รสชาติ กลิ่น และคุณค่าทางอาหาร ขึ้นอยู่กับสูตรของผลิตภัณฑ์ ชนิดของบรรจุภัณฑ์ อุณหภูมิ แสง และกระบวนการผลิต วิธีการศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ เรียกว่า “ storage test ” ผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิดขวดแก้วใส จะถูกวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของลักษณะปรากฏด้วย แต่สำหรับผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิดขวดแก้วมีสี ไม่ต้องวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของลักษณะปรากฏ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จะถูกเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องที่มีอุณหภูมิคงที่ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา ระยะเวลาในการศึกษาอายุการเก็บรักษาของเครื่องดื่มทั่วไปใช้เวลา 6 สัปดาห์ แต่สำหรับผลิตภัณฑ์ที่สามารถเก็บรักษาได้

เป็นระยะเวลานาน จะใช้เวลาในการศึกษา 3 เดือน และถ้าในระยะเวลา นี้ ไม่พบการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ และผลิตภัณฑ์ยังคงได้รับการยอมรับ แสดงว่าผลิตภัณฑ์นี้มีอายุการเก็บรักษาอยู่ในช่วงระยะเวลา 10 - 12 เดือน

Siebert (1993) รายงานว่า การเกิดความขุ่นในน้ำผลไม้ ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในการเก็บรักษา เมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาสูงขึ้น ความขุ่นก็จะเพิ่มขึ้น

Sapers และคณะ (1995) พบว่า ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำแอปเปิ้ลไซ จะมีการเปลี่ยนแปลงสีเป็นสีเหลือง ซึ่งเกิดเนื่องจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์เมื่อเติมกรดแอสคอร์บิก

Ewaidah (1992) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำแอปเปิ้ลและน้ำสับประรดบรรจุกระป๋อง ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 , 24 , 33 และ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 เดือน โดยศึกษาคุณภาพทางกายภาพและทางเคมี คือ ปริมาณกรดแอสคอร์บิก ปริมาณซูโครส น้ำตาลรีดิวิซ์ ปริมาณกรดทั้งหมด ความเป็นกรด-ด่าง คุณภาพทางจุลินทรีย์ และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยแบบทดสอบ nine-point hedonic scale เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาและอุณหภูมิที่มีต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์

ผลการทดลองพบว่า ปริมาณกรดแอสคอร์บิก และซูโครสลดลง แต่น้ำตาลรีดิวิซ์จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา การเพิ่มขึ้นของน้ำตาลรีดิวิซ์นี้เกิดเนื่องจากการย่อยสลายตัวของซูโครส ส่วนการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า ผู้ทดสอบสามารถแยกความแตกต่างของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา