

บทที่ 2

เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 หม่อนผลสดและสารต้านอนุมูลอิสระในผลหม่อน

2.1.1 หม่อนผลสด

หม่อนผลสดเป็นชื่อเรียกผลหม่อนสุกที่เก็บเกี่ยวมาเพื่อบริโภคเหมือนผลไม้สดทั่วไป ผลหม่อนสุกได้จากต้นหม่อน ซึ่งหม่อน (mulberry) อยู่ในวงศ์ Moraceae เป็นไม้ยืนต้นจำพวกไม้พุ่ม มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบเขตร้อน พันธ์หม่อนที่นิยมปลูกในประเทศไทย คือ พันธุ์เชียงใหม่ พันธุ์บุรีรัมย์ 60 พันธุ์นครราชสีมา 60 และพันธุ์ศรีสะเกษ 33 ลักษณะที่สำคัญของพืชในวงศ์นี้คือ มียางมีขนที่ใบ มีเส้นใย ใบมีรูปร่างทั้งที่เป็นแฉกและไม้เป็นแฉก จัดเป็นไม้ผลในกลุ่ม hard wood ตาดอกเป็นชนิดตารางรวม ส่วนลักษณะของดอกเป็นทั้งแบบดอกที่มีเกสรตัวผู้และตัวเมียแยกกันคนละต้น หรือบางพันธุ์อาจเป็นดอกที่มีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในต้นเดียวกัน การพัฒนาของผลหม่อนจะเริ่มจากดอกของหม่อนที่แตกออกมาพร้อมกับใบ จากนั้นจะบานออกหลังจากแตกช่อใบพร้อมช่อดอกประมาณ 8-12 วัน สีของผลหม่อนจะเริ่มจากสีเขียว ขาว ชมพูแดง และมีสีแดงเข้มหรือแดงดำเมื่อสุกจัด (วสันต์, 2546) ผลหม่อนสามารถแบ่งระยะความสุกตามสีได้ 3 ระยะคือ ผลแก่ (สีแดงทั้งผล) ผลห่าม (สีแดงร้อยละ 50 และสีม่วงดำร้อยละ 50) และผลสุก (สีม่วงดำทั้งผล) (สงกรานต์, 2551)

ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลหม่อนสุกพันธุ์เชียงใหม่ พบว่ามีคาร์โบไฮเดรต 21.35 กรัม/100 กรัม เหล็ก 43.48 มิลลิกรัม/100 กรัม วิตามินบี 1 50.65 มิลลิกรัม/100 กรัม และวิตามินบี 6 930.10 มิลลิกรัม/100 กรัม ต่อน้ำหนักแห้ง (วสันต์, 2546) สำหรับในต่างประเทศได้มีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของผลหม่อนขาว (*Morus alba* L.) ผลหม่อนแดง (*Morus rubra* L.) และผลหม่อนดำ (*Morus nigra* L.) ที่ปลูกในบริเวณทางตะวันออกของประเทศตุรกี พบว่าผลหม่อนมีของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดอยู่ในช่วง 15.90-20.40 องศาบริกซ์ ปริมาณกรดทั้งหมดมีอยู่ในช่วงร้อยละ 0.25-1.40 ค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วงร้อยละ 3.52-5.60 และปริมาณวิตามินซี อยู่ในช่วง 0.19-0.22 มิลลิกรัมต่อกรัม (Ercisli and Orhan, 2006)

2.1.2 สารต้านอนุมูลอิสระในผลหม่อน

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) คือ สารที่ช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ และจะไปหยุดยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระทำให้คงตัว และหยุดการก่อตัวใหม่ (มลศิริ, 2540) สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสารจากธรรมชาติ (natural antioxidants) มักพบในอาหารจำพวกผักและผลไม้ ได้แก่ phenolic compounds, amino acid, ascorbic acid, carotenoids, flavonoids, melanoidin, organic acids, tannins, quercetin และ tocopherols เป็นต้น (Huang *et al.*, 1992) และสารสังเคราะห์ (synthetic antioxidant) ได้แก่ tert-butyl-4-hydroxyanisole (BHA), tert-butyl-4-hydroxytoluene (BHT) และ tert-butylhydroquinone (TBHQ) เป็นต้น มีรายงานการวิจัยว่าสารต้านอนุมูลอิสระมีศักยภาพในการทำให้การเรียนรู้และความจำในภาวะสมองเสื่อมดีขึ้น (Auddy *et al.*, 2003) สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งเป็น 5 ประเภทใหญ่ๆ ดังนี้

1. Primary antioxidant ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอน ได้แก่ สารประกอบฟีนอล (phenolic substance) ทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนี้ยังรวมถึงสารโทโคฟีรอลจากธรรมชาติ และจากการสังเคราะห์
2. Oxygen scavenger สารกลุ่มนี้จะเข้าไปทำปฏิกิริยากับออกซิเจน จึงเป็นการช่วยกำจัดออกซิเจนในระบบปิดได้ ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก หรือวิตามินซี, ascorbyl palmitate, erythorbic acid (isoascorbic acid) และ sodium erythorbate เป็นต้น
3. Secondary antioxidant ทำหน้าที่สลายโมเลกุลของ lipid hydroperoxide ให้เป็นสารที่มีความเสถียร ได้แก่ dialkyl thiopropionate และ thiopropionic acid
4. Enzymic antioxidant ทำหน้าที่กำจัดออกซิเจน หรืออนุมูลอิสระของออกซิเจน โดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ได้แก่ เอนไซม์ต่างๆ ซึ่งแบ่งเป็น primary antioxidant enzyme และ ancillary antioxidant enzyme
5. Chelating agent หรือ sequestrant ทำหน้าที่ไปจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดง ซึ่งไอออนเหล่านี้เป็นไอออนที่ส่งเสริม และเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียร ได้แก่ กรดซิตริก กรดอะมิโน และ ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) เป็นต้น

ในผลหม่อนมีสารประกอบฟีนอลซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ต่อต้านอาการอักเสบ และอาการเส้นเลือดโป่งพอง ช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและไวรัส (Duthie *et al.*, 2000) ได้มีรายงานว่า ในผลหม่อน สุกมีสารเคอร์ซีทิน (quercetin) ซึ่งเป็นสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ โดยมีในผลหม่อนสุกที่เป็นผลสด 34.20 ไมโครกรัมต่อกรัม และมีในผลหม่อนสุกที่

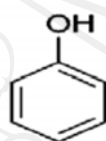
เป็นผลแห้ง 176.40 ไมโครกรัมต่อกรัม ซึ่งสารนี้ก็มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยเช่นกัน มีคุณสมบัติลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ ความดันโลหิตสูง และป้องกันการเกิดลิ่มเลือดในหลอดเลือด (Manach, 2005) ผลหม่อนสุกจะมีสารสี (pigment) ในกลุ่มของแอนโทไซยานิน (anthocyanins) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีในผลหม่อนสุกที่เป็นผลสดอยู่ในช่วง 258.41-2,512.40 ไมโครกรัมต่อกรัม (สมชาย และคณะ, 2550) ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน และโรคมะเร็ง (Lazze *et al.*, 2004)

การศึกษาคุณภาพของผลหม่อนสุกได้มีการศึกษาทั้งในและต่างประเทศ ในประเทศไทย ได้มีรายงานว่าผลหม่อนสุกพันธุ์บุรีรัมย์ 60 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณสารแอนโทไซยานิน และสารแอนติออกซิแดนซ์ สูงกว่าผลหม่อนสุกพันธุ์เชียงใหม่ และผลหม่อนสุก (สีม่วงดำทั้งผล) มีปริมาณสารต่างๆ ดังกล่าวสูงกว่าผลหม่อนห้าม (สีแดงร้อยละ 50 และสีม่วงดำร้อยละ 50) (สุรินทร์, 2548) นอกจากนี้ยังพบว่าผลหม่อนสุกพันธุ์เชียงใหม่ มีสารประกอบฟีนอลทั้งหมด สารแอนโทไซยานินทั้งหมด สารเคอร์ซีทิน และดัชนีสารต้านอนุมูลอิสระ เพิ่มสูงขึ้นตามระยะความสุกที่เพิ่มขึ้น ผลหม่อนสุก (สีม่วงดำทั้งผล) พบสารกลุ่มนี้มีปริมาณสูงสุด ($3,654.97 \pm 7.59$ $2,512.40 \pm 11.32$ 1.81 ± 1.00 ไมโครกรัมต่อกรัม และ 6.89 ± 0.53 ตามลำดับ) (สงกรานต์, 2551) สำหรับงานวิจัยในต่างประเทศพบว่าในผลหม่อนมีสารประกอบเคอร์ซีทิน ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Du *et al.*, 2008) ผลหม่อนสุก (สีม่วงดำทั้งผล) มีปริมาณสารต่างๆ สูงกว่าผลหม่อนห้าม (สีแดง) โดยมีปริมาณเคอร์ซีทินในผลหม่อนสุกสดมีอยู่ 3.42 มิลลิกรัม/100 กรัม ในผลหม่อนสุกแห้งมีอยู่ 17.63 มิลลิกรัม/100 กรัม นอกจากนี้ผลหม่อนสุกมีสารสีในกลุ่มของสารแอนโทไซยานิน ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งยังมีรายงานว่าในผลหม่อนมีสารประกอบฟีนอลที่มีคุณสมบัติ ในการยับยั้งการแข็งตัวของเกร็ดเลือด ต่อต้านอาการอักเสบและบวม ต่อต้านการแพ้ รักษาแผลในกระเพาะอาหาร และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Middleton and Kandaswami, 1994)

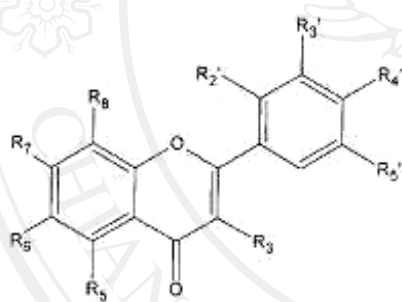
สารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญและพบในผลหม่อน คือ สารประกอบฟีนอล สารเคอร์ซีทิน และสารแอนโทไซยานิน

1) สารประกอบฟีนอล (Phenolic compounds) เป็นสารที่พบได้ในผักและผลไม้ทั่วไปมีโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ที่มีจำนวน hydroxyl group อย่างน้อยหนึ่ง หรือมากกว่าหนึ่งหมู่ในโมเลกุล (รูปที่ 1) ส่วนมากสารประกอบฟีนอลมักเชื่อมอยู่กับ mono- และ polysaccharides เกิดเป็นโครงสร้างที่หลากหลาย สารประกอบฟีนอลในธรรมชาติ จึงมีอยู่หลายชนิด สามารถละลายได้ในน้ำ ส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลมักพบอยู่รวมกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลยังอาจรวมกับ

สารประกอบอื่นอีกหลายชนิด เช่น hydroxycinnamic acid อาจพบรวมกับ organic acids, amino groups, lipids, terpenoids, phenolics และกลุ่มอื่นๆ นอกเหนือจากน้ำตาล สารประกอบฟีนอลหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนต์ เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และลิกนิน เป็นต้น นอกจากนี้ปริมาณสารประกอบฟีนอลของพืชยังขึ้นอยู่กับปัจจัยภายใน เช่น สกุล ชนิด และพันธุ์ และปัจจัยภายนอก เช่น สภาพแวดล้อม วิธีการเก็บเกี่ยว และการเก็บรักษา ประโยชน์ของสารประกอบฟีนอลในการรักษาโรค เช่น มีฤทธิ์ต่อต้านอาการอักเสบ และอาการเส้นเลือดโป่งพอง ช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและไวรัส (Duthie *et al.*, 2000)



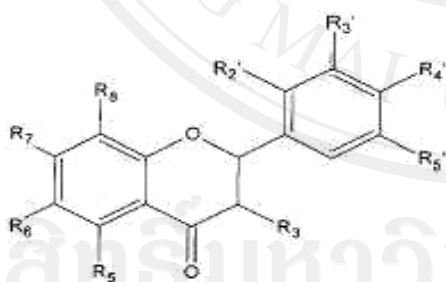
Phenol



A: flavone/ flavonol

quercetin = OH : 3, 5, 7, 3', 4'

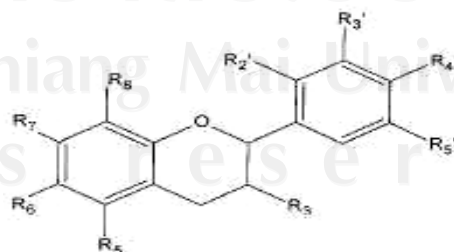
kaempferol = OH : 3, 5, 7, 4'



B: flavanone/ flavanonol

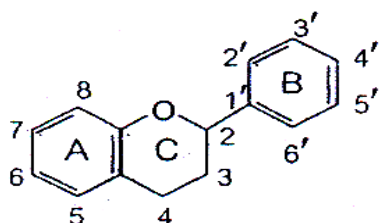
taxifolin = OH : 3, 5, 7, 3', 4'

naringenin = OH : 5, 7, 4'



C: flavanol

catechin = OH



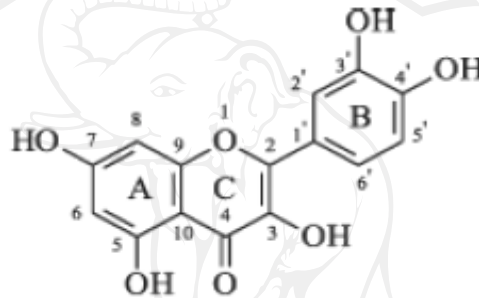
D: anthocyanidin

cyanidin = OH : 3, 5, 7, 3', 4'

รูปที่ 2.1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลบางชนิด

ที่มา: Dzyubak, 2007

2) สารเคอร์ซีทิน (Quercetin) เป็นสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ ในกลุ่มของ ฟลาโวนอล (flavonol) เกิดจากการที่สารประกอบฟลาโวนมีการแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มขึ้นที่ ตำแหน่ง 3 (รูปที่ 2) มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในหัวหอม แอปเปิล ไข่ขาว และ ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่



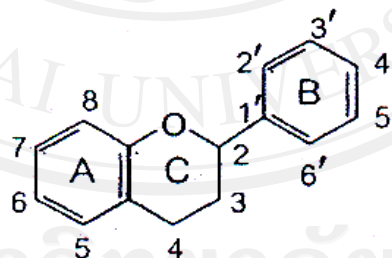
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของเคอร์ซีทิน

ที่มา: Castaeda-Ovando *et al.*, 2009

รายงานการวิจัยพบว่าสารเคอร์ซีทิน สามารถช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจ และ เส้นเลือดสมองตีบ การเสริมสาร เคอร์ซีทินช่วยลดความดันโลหิตในสัตว์ที่มีความดันโลหิตสูง (Manach *et al.*, 2005) และได้มีการศึกษาการเสริมสารเคอร์ซีทินในผู้ป่วยทั้งชายและหญิงที่เริ่มมีความดันโลหิตสูง และเป็นความดันโลหิตสูงขั้นที่หนึ่ง โดยเสริมสารเคอร์ซีทินวันละ 730 มิลลิกรัม เป็นเวลา 28 วัน พบว่าหลังการเสริมสารเคอร์ซีทิน ความดันโลหิตในกลุ่มที่เริ่มมีความดันโลหิตสูง ไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งตรงข้ามกับกลุ่มที่มีความดันโลหิตสูงขั้นที่หนึ่งที่มีความดันโลหิตจะลดลง (Nutrition update, 2007) ได้มีการศึกษาปริมาณการดูดซึมของสารเคอร์ซีทินในอาสาสมัครที่ทำศัลยกรรมสร้างทางผ่านเข้าไปในลำไส้เล็กตอนปลาย โดยทางผนังช่องท้อง (ileostomy) เพื่อป้องกันการสูญเสียสารประกอบฟลาโวนอยด์ เนื่องจากแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ และได้รับสารเคอร์ซีทินจากหัวหอมทอด ซึ่งมีสารเคอร์ซีทินไกลโคไซด์ในปริมาณสูง (เทียบเท่ากับอะโกลโคโน 89 มิลลิกรัม) สารเคอร์ซีทินรูตินโนไซด์บริสุทธิ์ ซึ่งเป็นสารเคอร์ซีทินหลักในชาเทียบเท่ากับอะโกลโคโน 10 มิลลิกรัม หรือสารเคอร์ซีทินอะโกลโคโนบริสุทธิ์ 100 มิลลิกรัม พบว่าภายใน 13 ชั่วโมง สาร

เคอร์ซีทินหรือไกลโคไซด์ของสารเคอร์ซีทินในของเหลวจากทางเดินอาหารมีการสลายตัวน้อยมาก มีการดูดซึมของสารเคอร์ซีทินไกลโคไซด์จากหัวหอมทอดร้อยละ 52 สารเคอร์ซีทินรูตินโนไซด์ ร้อยละ 17 และสารเคอร์ซีทินอะไกลโคโคนบริสุทธิร้อยละ 24 การขับออกของสารเคอร์ซีทิน หรือไกลโคไซด์ของสารเคอร์ซีทินเป็นร้อยละ 5 ของปริมาณที่ถูกดูดซึม แสดงว่าสารเคอร์ซีทินไกลโคไซด์จากหัวหอมถูกดูดซึมได้ในลำไส้เล็ก (Pietta and Simonetti, 1999)

3) สารแอนโทไซยานิน (Anthocyanins) เป็นรงควัตถุที่พบในผัก ผลไม้ และดอกไม้ ละลายอยู่ใน vacuole sap ในเซลล์ของพืช เช่น มะเขือม่วง กะหล่ำปลี สีม่วง แอปเปิล กระจับปี่ องุ่น และผลไม้ประเภทเบอร์รี่ เป็นต้น สามารถละลายน้ำได้แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายประเภท non-hydroxyl เช่น acetone, chloroform และ ether จะมีสีแดงที่ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่ำ และมีสีม่วงหรือสีน้ำเงินที่พีเอชเป็นกลางหรือเป็นด่าง โมเลกุลประกอบด้วยแอนโทไซยานินที่เรียกว่าอะไกลโคโคนจับตัวกับน้ำตาลด้วยพันธะ β -glycosidic ที่คาร์บอนตำแหน่งที่สาม (รูปที่ 3) น้ำตาลที่จับกับแอนโทไซยานินเป็น monosaccharide ได้แก่ glucose, rhamnose, galactose หรือ arabinose หรือพวก disaccharide หรือ trisaccharide โมเลกุลน้ำตาลมักถูก esterified ที่คาร์บอนตำแหน่งที่สามด้วยกรดอินทรีย์บางชนิด เช่น p-coumaric, caffeic และ ferulic ซึ่งน้ำตาลในโมเลกุลของสารแอนโทไซยานินนั้นมีส่วนช่วยให้สารแอนโทไซยานินสามารถคงตัวได้ดี (เกียรติศักดิ์ , 2535)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน

ที่มา: Dzyubak, 2007

ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน เช่น เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานิน ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ออกซิเจน และแสง โครงสร้างในส่วนของวงแหวนฟีนอลมีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล หรือหมู่เมทอกซิลเพิ่มขึ้นจะมีผลต่อสีของแอนโทไซยานิน เช่น การเพิ่มหมู่ไฮดรอกซิลให้มากขึ้นจะทำให้มีสีเข้มขึ้น โดยสีจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินมากขึ้นด้วยและการเพิ่มหมู่เมทอกซิลแทนที่หมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3' และ 5' จะทำให้สีแดงเพิ่มมาก

ขึ้น การใช้ประโยชน์ของแอนโทไซยานิน เช่น อุตสาหกรรมผลไม้กระป๋อง นมเปรี้ยว และไวน์แดง เป็นต้น ซึ่งสีของแอนโทไซยานินจะคงสภาพได้ดีที่ความชื้นไม่เกิน ร้อยละ 3 และการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรดจะให้สีคงทน (สันติ, 2534)

ผลการศึกษาศักดิ์สารแอนโทไซยานินในผลหม่อนเพื่อใช้เป็นสีผสมอาหารที่ได้จากธรรมชาติ พบว่าในน้ำที่สกัดได้มีปริมาณแอนโทไซยานิน 384.07 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ macro porous resin จากนั้นทำให้เข้มข้น และสามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมในน้ำผลไม้สกัดเข้มข้น ไวน์ และซอส เป็นต้น (Xueming *et al.*, 2004) โดยแอนโทไซยานินจะถูกทำลายได้ง่ายในกระบวนการแปรรูปอาหาร จากการศึกษาของผลกระทบของน้ำตาลและกรดซิตริก ที่มีผลต่อความเสถียรของแอนโทไซยานินของน้ำกระเจี๊ยบและน้ำอัญชัน พบว่าการเพิ่มปริมาณน้ำตาลทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินในเครื่องดื่มน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญในขณะที่กรดซิตริกไม่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานิน (เพชรรัตน์ และอิศราภรณ์, 2551)

2.2 กระบวนการทำน้ำผลไม้ให้เข้มข้น

ผลไม้สามารถนำไปแปรรูปเป็นน้ำผลไม้พร้อมดื่ม และน้ำผลไม้สกัดเข้มข้นได้โดยน้ำผลไม้พร้อมดื่มจะมีน้ำเป็นส่วนผสมในปริมาณที่มากทำให้สิ้นเปลืองพื้นที่และไม่สะดวกในการขนส่ง แต่หากเป็นน้ำผลไม้สกัดเข้มข้นจะช่วยลดพื้นที่ในการขนส่งได้ ดังนั้นจึงมีการผลิตน้ำผลไม้สกัดเข้มข้นขึ้นเพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว ปัจจุบันเครื่องมือที่ช่วยในการระเหยน้ำออกจากเครื่องดื่มสามารถทำให้เข้มข้นได้ ประมาณ 55-56 องศาบริกซ์ แต่ในทางปฏิบัติต้องการความเข้มข้นเพียง 40 องศาบริกซ์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม มีความหนืดไม่มากนัก (รุ่งนภา, 2535)

กระบวนการในการผลิตน้ำผลไม้สกัดเข้มข้นนี้มีหลักการเช่นเดียวกับการผลิตน้ำผลไม้ ประกอบด้วย การสกัดน้ำผลไม้ การกรอง การให้ความร้อน การบรรจุและการเก็บรักษา แต่จะมีขั้นตอนที่สำคัญเพิ่มขึ้นมาคือ ขั้นตอนการทำให้เข้มข้นซึ่งเป็นกระบวนการแยกหรือระเหยน้ำออกจากน้ำผลไม้สามารถทำได้หลายกระบวนการ แต่ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการทำเครื่องดื่มเข้มข้นแบ่งได้เป็น 3 ประเภทดังนี้

2.2.1 การทำเข้มข้นแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze concentration) เป็นการทำให้อาหารที่เป็นของเหลวมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ซึ่งมีหลักการ คือการลดอุณหภูมิของอาหารเหลวให้ต่ำลงจนกระทั่งอาหารบางส่วนแข็งตัว อาหารในช่วงนี้มีลักษณะเป็นกึ่งของเหลวกึ่งของแข็ง (slurry) เพราะในอาหารเหลวประกอบไปด้วยผลึกน้ำแข็ง (ice crystal) อยู่ร่วมกับส่วนที่เป็นของเหลว ทำให้อาหารมีความเข้มข้นมากขึ้นเนื่องจากน้ำในอาหารเหลวบางส่วนเปลี่ยนสถานะเป็นน้ำแข็ง ถ้าผลึกน้ำแข็งเกิดขึ้นในสภาวะที่เหมาะสมผลึกน้ำแข็งที่ได้จะมีความบริสุทธิ์มาก เมื่ออาหารเหลวมีลักษณะเป็น

slurry แล้วแยกผลึกน้ำแข็งออกจากของเหลว ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้คืออาหารเหลวที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น (Marcus, 2003) ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดผลึกน้ำแข็ง คือการลดลงของจุดเยือกแข็งและการเกิดจุดสมมูล (eutectic) ในระหว่างการแช่เยือกแข็งอาหารเหลวที่มีตัวถูกละลายที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น เกลือ น้ำตาล ซึ่งจะไม่ทำให้อาหารเหลวแข็งตัวที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส แต่จะแข็งตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ถ้ามีปริมาณตัวถูกละลายอยู่มากจะทำให้จุดเยือกแข็งของอาหารเหลวยิ่งต่ำลง ทำให้ความเข้มข้นของตัวถูกละลายเพิ่มขึ้นจนมาถึงจุดสมมูล ของเหลวจะมีความหนืดมากและทำให้การแยกผลึกน้ำแข็งออกไปได้ยาก (สมชาย และคณะ , 2551) ข้อจำกัดของการทำให้เข้มข้นแบบแช่เยือกแข็ง คือ ความเข้มข้นของอาหารที่ได้ต่ำกว่าวิธีการระเหย ถ้าใช้วิธีการระเหยจะทำให้ได้อาหารที่มีความเข้มข้น ร้อยละ 70-95 แต่ถ้าทำเข้มข้น โดยการแช่เยือกแข็งจะได้อาหารที่มีความเข้มข้น ร้อยละ 40-55 (Marcus, 2003)

ปัทมา (2552) ได้ศึกษากระบวนการผลิตน้ำหมอนสกัดเข้มข้นโดยการทำให้เข้มข้นแบบแช่เยือกแข็ง (freeze concentration) พบว่าสามารถทำให้น้ำหมอนมีความเข้มข้นได้สูงสุดเท่ากับ 40 ± 1 องศาบริกซ์ โดยผลิตภัณฑ์สุดท้ายหลังการทำให้เข้มข้นยังคงมีกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระอยู่ในปริมาณที่สูง เมื่อเทียบกับน้ำหมอนสกัดสด และมีคะแนนความชอบรวมเท่ากับ 6.3 ± 1.71 อยู่ในระดับชอบเล็กน้อย โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ สีทอง (2552) ได้ศึกษาการผลิตน้ำผลไม้ผสมเข้มข้นโดยใช้เทคนิคการทำเข้มข้นแบบแช่เยือกแข็ง พบว่าผลิตภัณฑ์สุดท้ายหลังการทำให้เข้มข้นมีปริมาณวิตามินซีอยู่สูง ใกล้เคียงกับน้ำหมอนสกัดสด

2.2.2 กระบวนการระเหยภายใต้สุญญากาศ (Vacuum evaporation) เป็นหน่วยปฏิบัติการที่สำคัญ และนิยมใช้ในการกำจัดน้ำออกจากอาหารเหลวเจือจาง เพื่อให้ได้อาหารเหลวที่เข้มข้น จุดประสงค์ของกระบวนการคือ ช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ได้ และยังช่วยลดค่าใช้จ่ายในการขนส่งและเก็บรักษา นอกจากนี้ยังเป็นกระบวนการทำให้ของเหลวเข้มข้นก่อนเข้าสู่กระบวนการแปรรูปอื่นต่อไปด้วย อาหารเข้มข้นได้โดยการระเหยน้ำอิสระ (free water) ที่อยู่ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งกระทำได้โดยการเพิ่มอุณหภูมิจนถึงจุดเดือด แล้วคงไว้ ณ อุณหภูมิดังกล่าวในช่วงเวลาหนึ่ง เพื่อให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการ แต่ในกรณีที่อาหารไม่ทนต่อความร้อน (heat sensitivity) การระเหยควรกระทำภายใต้สุญญากาศ การใช้สภาวะสุญญากาศค่อนข้างสูง (ความดันต่ำ) จะสามารถกำจัดปริมาณความชื้นจากอาหารเหลวได้มาก โดยไม่ทำลายคุณภาพของส่วนประกอบที่ไวต่อความร้อนมากนัก เนื่องจากในสภาพสุญญากาศ (vacuum) จะทำให้น้ำระเหยที่อุณหภูมิต่ำลง ดังนั้นจึงลดความเสียหายเนื่องจากความร้อนได้ (รุ่งนภา, 2535)

Hernandez *et al.* (2009) ได้ศึกษาผลการระเหยน้ำแอปเปิ้ล และน้ำลูกแพร์ด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ พบว่า รสชาติ สี และวิตามินซีคงอยู่สภาพเดิมเหมือนผลไม้สด แต่น้ำลูก

แพร่จะมีการสูญเสียกลิ่นพวก ester ระหว่างการเตรียมและเข้ากรรมวิธีการผลิตประมาณร้อยละ 50 แต่สามารถป้องกันได้โดยการควบคุมกรรมวิธีการผลิตให้อยู่ในสถานะปิดตลอดเวลา ดังนั้นการระเหยน้ำออกจะทำในสุญญากาศและอุณหภูมิต่ำ 36-40 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับงานวิจัยของ ธนพล และศิริรักษ์ (2548) ได้พัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำเชื่อมลำไยเข้มข้นด้วยวิธีระเหยภายใต้สุญญากาศ พบว่า ยังคงมีสารกลุ่มต้านอนุมูลอิสระ รสชาติ สี และกลิ่นรส ใกล้เคียงกับน้ำลำไยสด

2.2.3 กระบวนการระเหยแบบไพลเป็นฟิล์มบาง (Climbing film evaporation) เป็นวิธีการระเหยที่ทำงานภายใต้สภาวะความดันต่ำกว่าความดันบรรยากาศ เพื่อลดจุดเดือดของสารละลายลง นั่นคือเครื่องระเหยจะปฏิบัติงานที่อุณหภูมิต่ำลง เครื่องระเหยแบบไพลเป็นฟิล์มบางนี้จะมีลักษณะที่สำคัญคือ สารละลายจะไหลผ่านผิวหน้าของเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อนเป็นฟิล์มบางๆ โดยตัวกลางในการให้ความร้อนคือไอน้ำ สารละลายเจือจางจะถูกป้อนเข้าทางตอนล่างของท่อ ไพลเข้าไปในท่อและเกิดการระเหยเป็นไอ ไอเคลื่อนที่ได้เร็วเมื่อเทียบกับของเหลวจึงทำให้เกิดแรงลากดึงของเหลวขึ้นไปตามผนังท่อเป็นฟิล์มบางได้ อุณหภูมิที่แตกต่างกันระหว่างผลิตภัณฑ์และสารให้ความร้อนอย่างน้อยประมาณ 14 องศาเซลเซียส จึงจะเพียงพอต่อการเกิดฟิล์ม เครื่องระเหยชนิดนี้เหมาะกับสารละลายที่มีความหนืดไม่สูงมากนักหรือสารละลายที่ไวต่อความร้อน หรือสารละลายที่เกิดฟอง หากต้องการเพิ่มปริมาณการระเหยต่อเที่ยวให้สูงขึ้นจะสามารถทำได้โดยการใช้ท่อให้ยาวขึ้น (เมธินี, 2551)

สุภภรณ์ (2547) ได้ศึกษาการแปรรูปน้ำส้มสกัดเข้มข้น โดยกระบวนการระเหยแบบไพลเป็นฟิล์มบางเปรียบเทียบกับการต้มระเหย พบว่ากระบวนการระเหยแบบไพลเป็นฟิล์มบาง สามารถผลิตน้ำส้มสกัดเข้มข้นที่มีความเข้มข้นได้ตามต้องการ และยังคงคุณค่าทางโภชนาการได้มากกว่าวิธีการต้มระเหย เนื่องจากมีการใช้ระบบสุญญากาศเข้าช่วยในการระเหย จึงทำให้จุดเดือดของสารละลายในเครื่องระเหยต่ำลง เป็นการลดการสูญเสียสารต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากความร้อน อีกทั้งงานวิจัยของ Hernandez *et al.* (2009) พบว่าการระเหยน้ำแอปเปิ้ล และน้ำลูกแพร์ โดยใช้ film evaporator ที่มีอุณหภูมิสูง จะใช้เวลาเพียง 1-2 นาที เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เช่น nitrogen compounds sugar และ organic acid ซึ่งจะทำให้เกิดกลิ่นไม่ดี (off-flavor) คือ เกิดกลิ่นที่เรียกว่า caramel จากการไหม้ของน้ำตาล ทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

กระบวนการทำน้ำผลไม้เข้มข้น แต่ละวิธีมีความแตกต่างกันซึ่งมีทั้งข้อดีและข้อด้อยโดยแสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบข้อดีและข้อด้อยระหว่างการทำเข้มข้นด้วยวิธีต่างๆ

กระบวนการทำเข้มข้น	ข้อดี	ข้อด้อย
--------------------	-------	---------

กระบวนการทำเข้มข้นแบบแช่เยือกแข็ง	<ol style="list-style-type: none"> 1. เป็นวิธีที่ใช้อุณหภูมิต่ำ คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไม่ถูกทำลายเนื่องจากความร้อน 2. น้ำแข็งที่แยกออกไปสามารถนำกลับมาใช้ในกระบวนการได้ เช่น นำกลับมาควั่นเนื้อสารทำความเย็น 3. เก็บรักษากลิ่นหอมระเหยได้มากกว่าวิธีอื่นๆ มีกลิ่นรสใกล้เคียงกับของสดมากที่สุด 	<ol style="list-style-type: none"> 1. ระดับความเข้มข้นที่ต้องการทำได้อย่างจำกัด ขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ 2. วิธีการนี้ไม่สามารถทำลายจุลินทรีย์เพียงแต่ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เท่านั้น 3. มีการสูญเสียปริมาตรของเหลวเข้มข้นสูงขณะทำการแยกผลึกน้ำแข็งออก 4. มีค่าใช้จ่ายในระหว่างการปฏิบัติงานสูง 5. ใช้ระยะเวลานานในการทำเข้มข้น
กระบวนการระเหยภายใต้สูญญากาศ	<ol style="list-style-type: none"> 1. คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไม่ถูกทำลายมากเนื่องจากใช้อุณหภูมิต่ำในการทำเข้มข้นที่ต่ำ 2. สามารถทำให้อาหารมีความเข้มข้นได้สูงตามต้องการ 3. มีประสิทธิภาพในการทำงานสูง 4. ต้นทุนในระหว่างการปฏิบัติงานต่ำ 	<ol style="list-style-type: none"> 1. คุณภาพของอาหาร สี และกลิ่นรสของอาหารอาจมีการเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากความร้อนที่ใช้ในการทำเข้มข้น 2. ไม่สามารถทำงานแบบต่อเนื่องได้
กระบวนการระเหยแบบไหลเป็นฟิล์มบาง	<ol style="list-style-type: none"> 1. คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไม่ถูกทำลายมากเนื่องจากใช้ระยะเวลาที่สั้นในการทำเข้มข้น 2. ใช้กับอาหารที่มีความชื้นหนืดไม่สูงมาก ไวต่อความร้อน หรือเป็นฟองง่าย 3. สามารถทำงานแบบต่อเนื่องได้ 	<ol style="list-style-type: none"> 1. คุณภาพของอาหาร สี และกลิ่นรสของอาหารอาจมีการเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากความร้อนสูง ที่ใช้ในการทำเข้มข้น 2. มีค่าใช้จ่ายสูงในการสร้างไอน้ำเพื่อเป็นตัวกลางในการให้ความร้อน 3. ต้องใช้ป้อนในระหว่างขั้นตอนการระเหย อาหารที่เข้มข้นขึ้นจะเคลื่อนที่ช้าลงบนผิวร้อน ทำให้เสี่ยงต่อการอุดตัน

2.3 เกสรดอกไม้จากผึ้ง

เกสรดอกไม้จากผึ้ง คือ ละอองเมื่อดเล็กๆ คล้ายฝุ่นแป้งที่เกิดและหลุดจากช่อเกสรตัวผู้ของดอกไม้มีนาชนิด ที่ผึ้งเป็นผู้รวบรวมคลุกเคล้ากับน้ำหวานของดอกไม้ โดยวิธีการเข้าไปคลุกเคล้ากับเกสร ให้เกสรติดตามตัว และใช้ขาปิดเขี้ยวรวมกันเป็นก้อนเล็กๆ ติดไว้ที่ปลายขาหลังทั้งสองข้าง บริเวณอวัยวะที่เรียกว่า ตะกร้าเก็บเกสร และนำกลับมาเก็บยังรังเพื่อใช้เป็นอาหารประเภทโปรตีนสำหรับประชากรในรังและโดยเฉพาะใช้เลี้ยงตัวอ่อน และจากการที่มีผึ้งเป็นสื่อกลางในการเก็บรวบรวมเกสรดอกไม้จากผึ้งเหล่านี้จึงนิยมเรียกว่า เกสรผึ้ง ผู้เลี้ยงผึ้งจะเก็บรวบรวมเมล็ดเกสร ที่อยู่ในถาด นำไปตากแดด หรือ นำไปเข้าตู้อบ ร้อน เอาเศษผงออก อบแห้งที่อุณหภูมิไม่เกิน 49 องศา

เซลเซียส จนเกสรผึ้ง มีความชื้นประมาณ ร้อยละ 8-10 โดยทั่วไปเกสรสดจะมีความชื้นอยู่ระหว่าง ร้อยละ 9-36 หลังจากนั้นจึงนำไปบรรจุลงถุงพลาสติกออกจำหน่าย หรือ นำไปอัดเม็ดเหมือนเม็ดยา หรือบรรจุในแคปซูล บางรายอาจนำไปผสมในน้ำผึ้ง หรือผสมในนมผึ้ง หรือผสมน้ำผึ้ง นมผึ้งและ เกสรผึ้งรวมกัน เกสรผึ้งในภาคเหนือส่วนใหญ่เป็นเกสรผึ้งที่ได้จากผึ้งพันธุ์ที่นำเข้ามาจาก ต่างประเทศ เช่น European honey bee mellifera ซึ่งเป็นผึ้งพันธุ์พื้นเมืองของทวีปยุโรปและแอฟริกา (ไทยลานนา ฟาร์มผึ้ง, 2551)

2.3.1 องค์ประกอบและคุณค่าทางโภชนาการของเกสรดอกไม้จากผึ้ง เกสรดอกไม้จากผึ้ง นั้นประกอบด้วยธาตุอาหารที่จำเป็นต่อร่างกาย ค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบที่เป็นธาตุอาหารของเกสร ดอกไม้จากผึ้งจากผึ้งคือ คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 60 โปรตีนร้อยละ 20 ไขมันร้อยละ 7 น้ำร้อยละ 7 และเกลือแร่ร้อยละ 6 เป็นต้น (HEALTH DD, 2005) เกสรดอกไม้จากผึ้งอุดมไปด้วยธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์มากมายเช่น โปรตีน เป็นส่วนใหญ่ มีวิตามิน 16 ชนิด ได้แก่ วิตามินบีคอมเพล็กซ์ วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินดี วิตามินอี และวิตามินเค มีกรด อะมิโน 18 ชนิด มีประโยชน์ช่วยในการซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอและมีชนิดที่จำเป็นในการช่วยควบคุมน้ำหนัก มีเอนไซม์ 18 ชนิด ช่วยในการย่อยสลาย และเร่งปฏิกิริยาต่างๆ ภายในร่างกาย มีแร่ธาตุที่จำเป็นต่อร่างกาย 28 ชนิด ได้แก่ โซเดียม แคลเซียม เหล็ก ทองแดง โพแทสเซียม ไอโอดีนและสังกะสี ฯลฯ มีกรดไขมัน (fatty acid) ซึ่งช่วยให้พลังงานและสร้างฮอร์โมนแก่ร่างกาย (HEALTH DD, 2005) ได้มีการศึกษาการวิเคราะห์ องค์ประกอบทางเคมีและทางพฤกษศาสตร์ของเกสรดอกไม้จากผึ้ง ในประเทศบราซิล โดยใช้เกสร ดอกไม้จากผึ้ง 10 ตัวอย่างจากแหล่งที่แตกต่างกัน โดยเกสรผึ้งที่วิเคราะห์ได้เป็น ค่าเฉลี่ยโดยมี ปริมาณความชื้นร้อยละ 7.4 โปรตีนร้อยละ 20 ไขมันร้อยละ 6 เถ้าร้อยละ 2.2 (Almeiad, 2005)

ผลการศึกษการวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการของเกสรดอกไม้จากดอกไม้สด เกสร ดอกไม้ที่ติดมากับขี้ผึ้ง และเกสรดอกไม้จากผึ้งโดยการสุ่มเก็บจากฟาร์ม จากผลการทดลองพบว่า คุณค่าทางโภชนาการ กรดอะมิโน และ Fatty acid มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยเกสรที่ ติดมากับขี้ผึ้ง และเกสรดอกไม้จากผึ้งโดยการสุ่มเก็บจากฟาร์ม จะมีปริมาณน้ำเพิ่มขึ้น (ร้อยละ 13-21 โดยน้ำหนักเปียก) และคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ 35-61 โดยน้ำหนักแห้ง) ส่วน Crude โปรตีน จะมีปริมาณลดลง (ร้อยละ 51-28 โดยน้ำหนักแห้ง) และไขมัน (ร้อยละ 10-8 โดยน้ำหนักแห้ง) และ ปริมาณของ Essential amino acid ตรวจพบในระดับที่เท่ากันทั้ง 3 ประเภทยกเว้น tryptophan ส่วน ปริมาณไขมัน พบว่าในเกสรดอกไม้สดจะมีปริมาณของ Fatty acid ในอัตราส่วนที่มากกว่า เกสร ดอกไม้ที่ติดมากับขี้ผึ้ง และเกสรดอกไม้จากผึ้งโดยการสุ่มเก็บจากฟาร์ม (Hannelie and Sue, 2006)

2.3.2 ประโยชน์ของเกสรดอกไม้จากผึ้ง เกสรดอกไม้จากผึ้งนั้นมีสารอาหารที่จำเป็นต่อ ร่างกายมนุษย์ในลักษณะอาหารเสริมสุขภาพ บำรุงร่างกายให้แข็งแรง โดยสามารถนำมาแปรรูปได้

หลายรูปแบบ เช่น ในรูปเมล็ดหรือแคปซูล รับประทานสด หรือนำมาทำแห้งเก็บไว้เพื่อรับประทาน นอกจากนี้ยังพบว่าเกสรผึ้งช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ ผิวหนัง กระตุ้นให้เลือดไปเลี้ยงเซลล์ได้อย่างทั่วถึง และยังให้ความชุ่มชื้นต่อผิวหนังที่แห้ง ช่วยให้ผิวพรรณผ่องใส เหตุนี้จึงมีการเสริมเกสรดอกไม้จากผึ้งในผลิตภัณฑ์หลายชนิด ได้มีการศึกษา การพัฒนาเครื่องคั้นน้ำผึ้งผสมน้ำมะนาวเสริมเกสรดอกไม้จากผึ้ง ได้ทำการศึกษารูปแบบและปริมาณที่เหมาะสมของเกสรดอกไม้จากผึ้ง 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยแรกเป็นรูปแบบของเกสรผึ้ง 2 ชนิด คือ เกสรดอกไม้จากผึ้งแบบสด และเกสรดอกไม้จากผึ้งแบบแห้ง ปัจจัยที่สองเป็นปริมาณของเกสรผึ้งที่เติม 3 ระดับ คือ ร้อยละ 5 10 และ 15 ตามลำดับน้ำผึ้งผสมมะนาวที่มีการเติมเกสรดอกไม้จากผึ้งแบบสด ร้อยละ 5 ได้คะแนนการยอมรับจากผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบอีกว่าการเติมเกสรดอกไม้จากผึ้งแบบสด ทำให้สี ความกลมกล่อมของรสชาติ และกลิ่นหอมของผลิตภัณฑ์ เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส มากกว่าการเติมเกสรดอกไม้จากผึ้งชนิดอบแห้ง (นิโลบล, 2551)

2.3.3 ความปลอดภัยของเกสรดอกไม้จากผึ้ง เกสรดอกไม้จากผึ้งถึงแม้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากผึ้ง แต่ผึ้งไม่ได้สร้างเอง โดยได้จากเกสรตัวผู้ของดอกไม้มานานานชนิด ผู้ที่แพ้ละอองเกสรดอกไม้จึงไม่ควรรับประทาน โดยมีการศึกษาความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่อเกสรดอกไม้ที่ผึ้งนำมาโดยจากการรายงานความเสียหายจากความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงผึ้งพันธุ์ในจังหวัดภาคเหนือของประเทศไทย พบว่าผึ้งจะมีความไวสูงต่อสารพิษและสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ซึ่งหากผึ้งได้รับสารเคมีดังกล่าวจะตายทันที จึงไม่สามารถที่จะนำเกสรดอกไม้มาที่รังได้ โดยจากการตรวจสอบสารเคมีที่มีพิษสูงสุดต่อผึ้งคือพวก (organophosphate, OPP) ของเกสรผึ้งในจังหวัดภาคเหนือของประเทศไทยนั้นตรวจไม่พบสารเคมีพวก OPP (สิริวัฒน์ และเพ็ญศรี, 2529)