บทที่ 4

ผลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ความชื้นของวัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้ คือเปลือกส้มเขียวหวานสดที่มีสีเหลือง ดังแสดงในรูปที่ 6 จากการวิเคราะห์ความชื้นตามวิธี AOAC พบว่า เปลือกส้มเขียวหวานสดมีความชื้นโดยเฉลี่ยร้อยละ 70.01 แสดงว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่ของเปลือกส้มเขียวหวานสดเป็นน้ำ

ผลการตรวจหาเบตาคาโรทีนในสารละลายสกัด

จากการตรวจหาเบตาคาโรทีนในสารละลายสกัดที่ได้ จากการสกัดตาม รูปที่ 5 ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบผิวบาง (TLC) โดยใช้แผ่นโครมาโตกราฟีอะลูมิเนียมที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล จี 60 เป็น stationary phase ส่วนตัวพาคือตัวทำละลายผสมอะซีโตนกับเฮกเซนในอัตราส่วน 25:75 โดยปริมาตร ผลของค่า R_f ของสารมาตรฐานเบตาคาโรทีนและสารละลายสกัดได้แสดงในตารางที่ 2

รูปที่ 6 เปลือกส้มเขียวหวาน

ตารางที่ 2 ค่า R_f ของเบตาคาโรทีนและสารละลายสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน

ชนิดของสารที่วิเคราะห์	R_f
เบตาคาโรทีน	0.95
สารละลายสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน	0.95

จากตารางที่ 2 แสดงว่าในสารสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานมีเบตาคาโรทีน ดังนั้นในการหาปริมาณคาโรทีนอยด์ทั้งหมดในสารละลายสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน สามารถคำนวณในค่าของเบตาคาโรทีนได้

ผลการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคาโรทีนอยด์จากเปลือกส้มเขียวหวาน

1. ผลการศึกษาผลของตัวทำละลายและตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัด

ใช้ อะซีโตน ปิโตรเลียมอีเธอร์ และเอธานอล 95% เป็นตัวทำละลายในการสกัดคาโรทีนอยด์จากเปลือกส้มเขียวหวานตามวิธีในรูปที่ 5(บทที่ 3) แต่สกัดซ้ำ 2 ครั้งในแต่ละตัวอย่าง นำสารละลายสกัดมาวิเคราะห์หาปริมาณคาโรทีนอยด์ทั้งหมดตามวิธีข้อ 2.3 (บทที่ 3) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

ตารางที่ 3 ผลของการใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในการสกัดคาโรทีนอยด์จากเปลือกส้มเขียวหวาน

ตัวทำละลาย	ปริมาณคาโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมเบตาคาโรทีนต่อกิโลกรัมเปลือกส้มแห้ง)
อะซีโตน	$49.82^{a} \pm 2.58$
ปิโตรเลียมอีเธอร์	$10.94^{c} \pm 0.92$
เอธานอล 95 %	$41.04^{b} \pm 2.25$

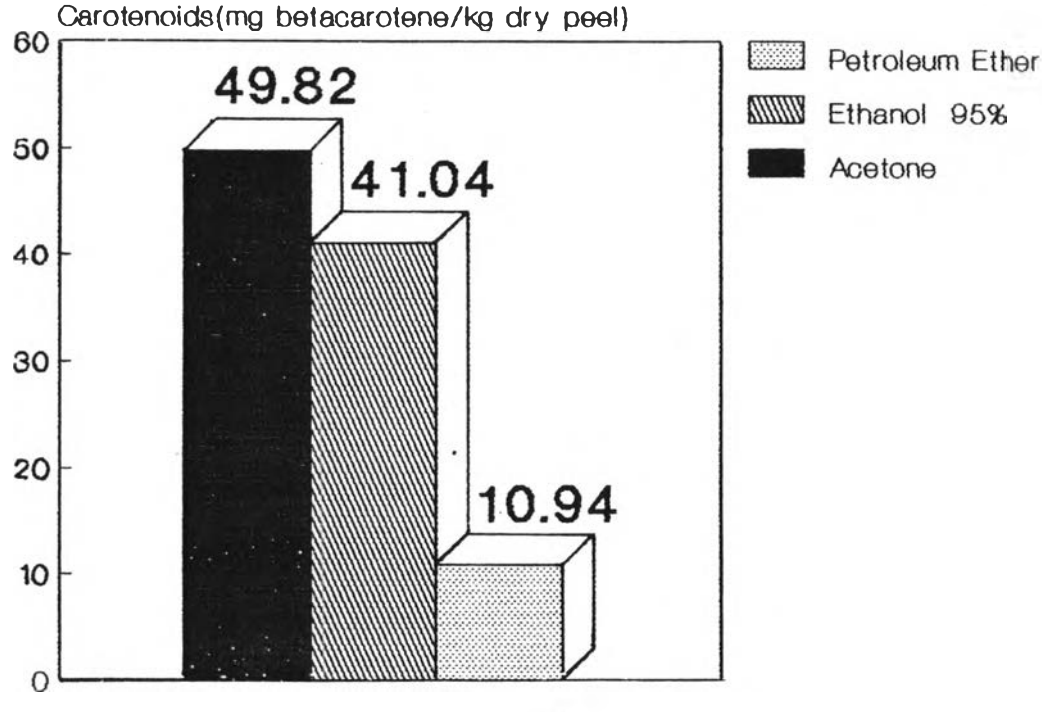
หมายเหตุ a,b,c...ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของชนิดตัวทำละลายในการสกัด

Source of variance	df	MS	F
Treatment	2	1663.435	397.199*
Error	9	4.188	

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าตัวทำละลายแต่ละชนิดสกัดคาโรทีนอยด์ได้ปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพในการสกัดคาโรทีนอยด์ดีที่สุดคืออะซีโตน รองมาคือ เอธานอล95% และปิโตรเลียมอีเธอร์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3 และตารางที่ 4



รูปที่ 7 ผลของการใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในการสกัดคาโรทีนอยด์จากเปลือกส้มเขียวหวาน

ผลในตารางที่ 3 และในรูปที่ 7 แสดงผลของชนิดตัวทำละลายในการสกัดคาโรทีนอยด์จากเปลือกส้มเขียวหวานจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าการใช้ปิโตรเลียมอีเธอร์สกัดนั้นจะได้คาโรทีนอยด์ปริมาณต่ำสุด ส่วนการใช้อะซีโตนสกัดได้ปริมาณมากสุดซึ่งอาจจะได้ปริมาณไม่ต่างกับเอธานอล 95% มากนัก แต่ในการกำจัดตัวทำละลายด้วยวิธีการระเหยภายใต้สุญญากาศกำจัดอะซีโตนได้ง่ายและเร็วกว่า

2. ผลศึกษาจำนวนครั้งการสกัด

ใช้ อะซีโตน เอธานอล 95% ปิโตรเลียมอีเธอร์ เป็นตัวทำละลายในการสกัดคาโรทีนอยด์ตามวิธีข้อ 2.1 (รูปที่ 5) ศึกษาจำนวนครั้งของการสกัด 6 ระดับ และหาปริมาณคาโรทีนอยด์ในสารละลายสกัดในแต่ละครั้ง แล้วคำนวณเป็นร้อยละของคาโรทีนอยด์ทั้งหมดที่สกัดได้ใน 6 ครั้ง และหาจำนวนครั้งที่สกัดได้คาโรทีนอยด์มากกว่าร้อยละ 80 ของคาโรทีนอยด์ที่สกัดได้ทั้งหมด ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

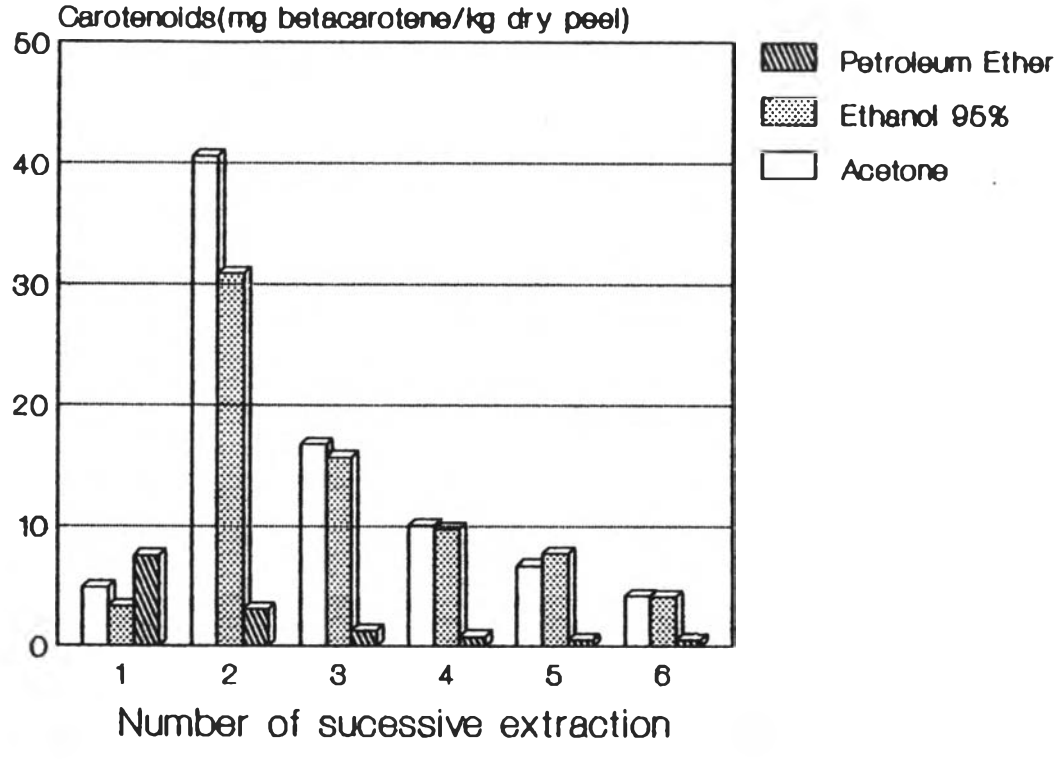
ตารางที่ 5 ปริมาณคาโรทีนอยด์ที่สกัดได้เมื่อใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในการสกัดและจำนวนครั้งของการสกัดต่างๆ กัน

ลำดับครั้งของการสกัด	ปริมาณคาโรทีนอยด์* (มิลลิกรัมเบตาคาโรทีนต่อกิโลกรัมเปลือกส้มแห้ง)		
	อะซีโตน	เอธานอล 95 %	ปิโตรเลียมอีเธอร์
1	4.90	3.28	7.53
2	40.63	30.88	3.09
3	16.77	15.68	1.31
4	10.05	9.72	0.81
5	6.71	7.72	0.56
6	4.18	4.15	0.52
รวมทั้งหมด	83.24	71.43	13.82

* ค่าเฉลี่ยจากการทำสองซ้ำ

ผลในตารางที่ 5 และกราฟในรูปที่ 8 แสดงปริมาณคาโรทีนอยด์เมื่อใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ และจำนวนครั้งของการสกัด จะเห็นว่าการใช้อะซีโตนและเอธานอล 95% สกัดในครั้งที่ 2 จะได้ปริมาณคาโรทีนอยด์สูงกว่าครั้งอื่นๆ ส่วนการใช้ปิโตรเลียมอีเธอร์สกัดในครั้งแรกได้ปริมาณคาโรทีนอยด์สูงสุดและเมื่อรวมปริมาณคาโรทีนอยด์ที่สกัดซ้ำทั้ง 6 ครั้ง อะซีโตนสกัดได้ปริมาณมากที่สุดซึ่งสกัดคาโรทีนอยด์จากเปลือกส้มได้ปริมาณคาโรทีนอยด์รวมจากการสกัดซ้ำ 4 ครั้ง เมื่อคิดเป็นร้อยละของคาโรทีนอยด์ทั้งหมดได้มากกว่าร้อยละ 80(ร้อยละ 86.92) รองมาคือเอธานอล 95% และปิโตรเลียมอีเธอร์ ตามลำดับ แสดงว่าตัวทำละลายที่รวมกับ

น้ำได้สามารถสกัดคาโรทีนอยด์จากพืชสดได้ดีกว่า ตัวทำละลายที่ไม่รวมกับน้ำ ดังนั้นในการศึกษาขั้นตอนต่อไปจึงใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายในการสกัด



รูปที่ 8 ปริมาณคาโรทีนอยด์เมื่อใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในการสกัดและจำนวนครั้งของการสกัด

3. ผลของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณเปลือกส้มเขียวหวานร่วมกับเวลาในการกวนระหว่างการสกัด

การสกัดคาโรทีนอยด์จากเปลือกส้มเขียวหวานตามข้อ 2.1 (รูปที่ 5) โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายในการสกัด ทำการสกัดซ้ำ 4 ครั้ง และแปรอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณเปลือกส้มเขียวหวาน 5 ระดับ คือ 1.0:1 1.5:1 2.0:1 2.5:1 และ 3.0:1 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก)ตามลำดับ และแปรเวลาในการกวนระหว่างการสกัด 6 ระดับ คือ 5 10 15 20 25 และ 30 นาที นำสารละลายสกัดที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณคาโรทีนอยด์และประเมินผล เพื่อเลือกอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับ

ปริมาณเปลือกส้มเขียวหวาน และเวลาในการกวนระหว่างการสกัดที่สกัดได้คาโรทีนอยด์สูงสุด ผลจากการทดลองดังกล่าวแสดงในตารางที่ 6 และรูปที่ 9

ตารางที่ 6 ผลของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายในการสกัดกับปริมาณเปลือกส้มเขียวหวานร่วมกับเวลาในการกวนที่มีต่อปริมาณคาโรทีนอยด์ที่สกัดได้

เวลาในการกวน (นาที)	ปริมาณคาโรทีนอยด์ที่สกัดได้ (มิลลิกรัมเบตาคาโรทีนต่อกิโลกรัมเปลือกส้มเขียวหวานแห้ง)				
	อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับเปลือกส้ม (ปริมาตรต่อน้ำหนัก)				
	1.0:1	1.5:1	2.0:1	2.5:1	3.0:1
5	34.13^{n} ±0.601	34.52^{n} ±0.602	45.22^{j} ±1.640	52.76^{gh} ±1.039	53.79^{fgh} ±0.411
10	44.53^{jk} ±1.093	48.27^{i} ±0.492	48.46^{i} ±0.302	55.15^{defg} ±0.505	52.94^{gh} ±0.561
15	40.54^{n} ±1.261	45.99^{j} ±0.547	56.27^{dc} ±1.093	54.54^{efgh} ±0.929	55.21^{defg} ±0.960
20	42.67^{l} ±0.212	59.37^{c} ±1.093	53.14^{gh} ±1.148	54.32^{fgh} ±0.573	55.55^{defg} ±0.884
25	42.65^{l} ±0.028	52.65^{gh} ±0.779	60.32^{c} ±0.690	69.09^{a} ±0.683	66.69^{b} ±0.725
30	43.13^{kl} ±0.882	56.70^{d} ±0.598	59.33^{c} ±1.145	54.27^{fgh} ±0.225	50.81^{h} ±0.453

a,b,c... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

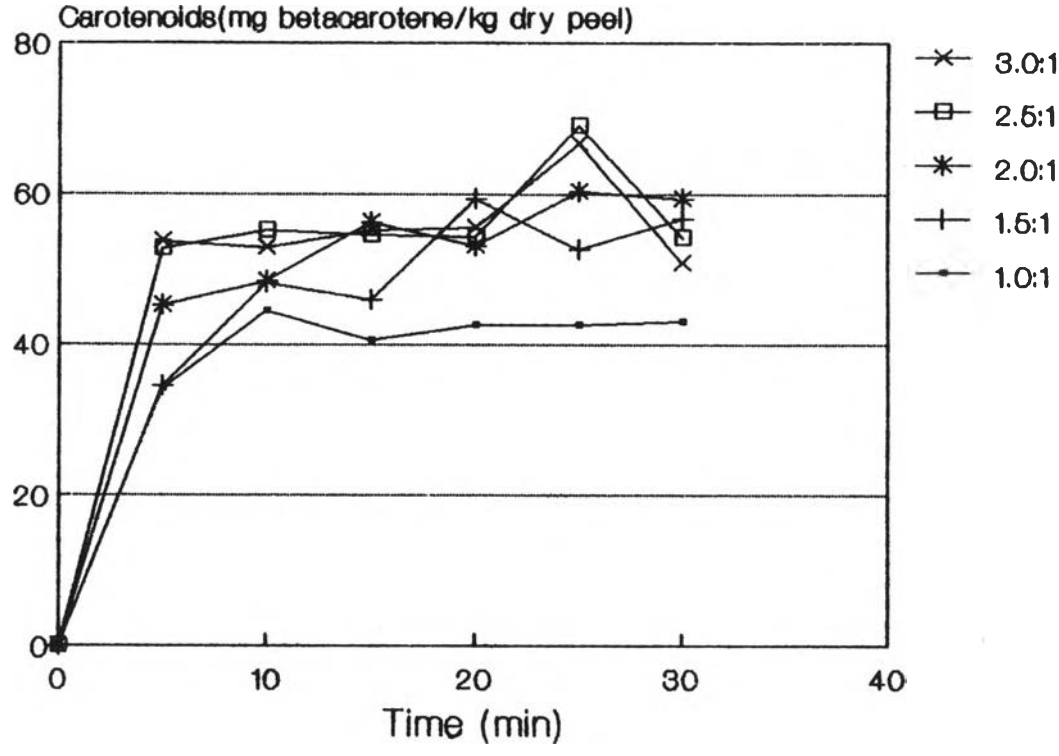
จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าอิทธิพลร่วมของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับเปลือกส้มและเวลาในการกวนมีผลต่อปริมาณคาโรทีนอยด์ที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับปริมาณเปลือกส้มเขียวหวานร่วมกับเวลาในการกวนระหว่างการสกัด

Source of varaince	df	MS	F
เวลาในการกวน (A)	5	217.379	311.99*
อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับเปลือกส้มเขียวหวาน (B)	4	477.410	685.19*
AB	20	44.883	64.42*
Error	30	0.697	

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าอิทธิพลร่วมของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับเปลือกส้มและเวลาในการกวนมีผลต่อปริมาณคาโรทีนอยด์ที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ผลของอิทธิพลร่วมปัจจัยทั้งสองต่อปริมาณคาโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากเปลือกส้มเขียวหวานแสดงดังตารางที่ 7



รูปที่ 9 ผลของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับเปลือกส้มเขียวหวานร่วมกับเวลาในการกวนต่อปริมาณคาโรทีนอยด์ที่สกัดได้

ผลแสดงในตารางที่ 6 และจากรูปที่ 9 แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับเปลือกส้มและเวลาในการกวน จะเห็นว่าอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับเปลือกส้มที่ 1.0:1 และ 1.5:1 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) เมื่อใช้เวลาในการกวนมากขึ้นปริมาณคาโรทีนอยด์มีค่าเพิ่มขึ้น ส่วนอัตราส่วนที่ 2.0:1 2.5:1 และ 3.0:1 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) เมื่อใช้เวลาในการกวนนาน 30 นาที ปริมาณคาโรทีนอยด์มีค่าต่ำลง จากการทดลองพบว่าการสกัดด้วยอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับเปลือกส้มเท่ากับ 2.5:1 (ปริมาตรต่อน้ำหนัก) กวนนาน 25 นาที สกัดคาโรทีนอยด์ได้ปริมาณมากที่สุด ดังนั้นในการทดลองขั้นตอนต่อไปจึงใช้ภาวะนี้ในการสกัด

4. ผลของอุณหภูมิในการสกัด

ใช้วิธีการสกัดตามวิธีข้อ 2.1 (รูปที่ 5) โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายในการสกัดซึ่งใช้อัตราส่วนอะซีโตนกับเปลือกส้มเป็น 2.5:1 ปริมาตรต่อน้ำหนัก เวลาในการกวน

25 นาที แปรอุณหภูมิในการสกัด 8 ระดับ คือ 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส และทำการสกัดซ้ำ 4 ครั้งในแต่ละตัวอย่าง นำสารละลายสกัดที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณคาโรทีนอยด์ และประเมินผลเพื่อเลือกอุณหภูมิในการสกัดที่สกัดคาโรทีนอยด์สูงสุด ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แสดงผลในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณคาโรทีนอยด์ที่สกัดได้

อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส)	ปริมาณคาโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมเบตาคาโรทีนต่อกิโลกรัมเปลือกส้มแห้ง)
5	$89.15^{b} \pm 0.194$
10	$90.91^{a} \pm 0.562$
15	$85.97^{c} \pm 0.628$
20	$85.48^{c} \pm 0.736$
26	$84.48^{c} \pm 0.431$
30	$80.44^{d} \pm 1.260$
35	$74.22^{e} \pm 0.865$
40	$58.27^{f} \pm 0.440$

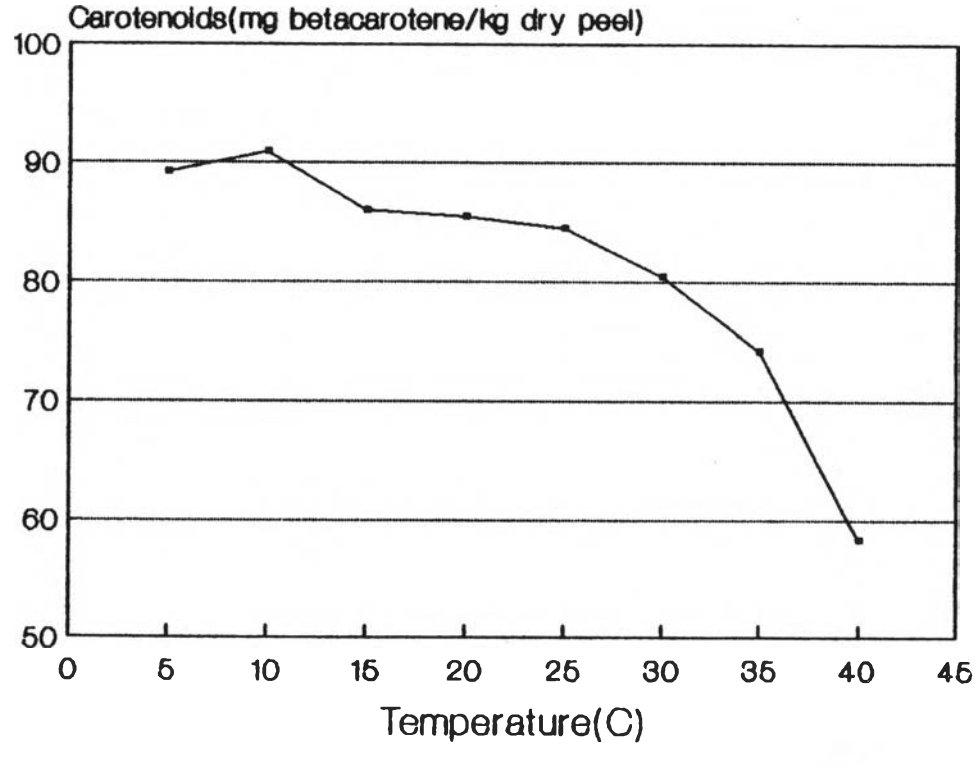
หมายเหตุ a,b,c,...ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนผลของอุณหภูมิในการสกัด

Source of variance	df	MS	F
อุณหภูมิ	7	339.030	809.14*
Error	16	0.419	

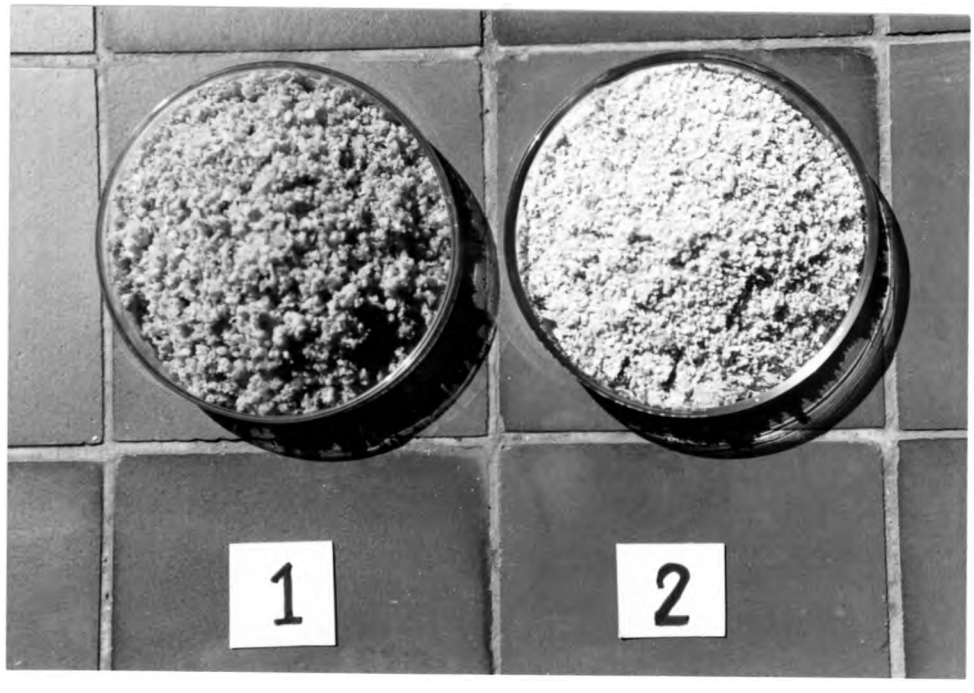
* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติ จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดมีผลให้ปริมาณคาโรทีนอยด์ที่สกัดได้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณคาโรทีนอยด์มากที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 8 และ ตารางที่ 9



รูปที่ 10 ผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณคาโรทีนอยด์

ผลในตารางที่ 8 และกราฟในรูปที่ 10 แสดงผลของอุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณคาโรทีนอยด์ที่สกัดได้ จะเห็นว่าในช่วงอุณหภูมิ 10-40 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นปริมาณคาโรทีนอยด์ลดลงและในช่วงอุณหภูมิ 15-25 องศาเซลเซียส ปริมาณคาโรทีนอยด์ไม่แตกต่างกัน



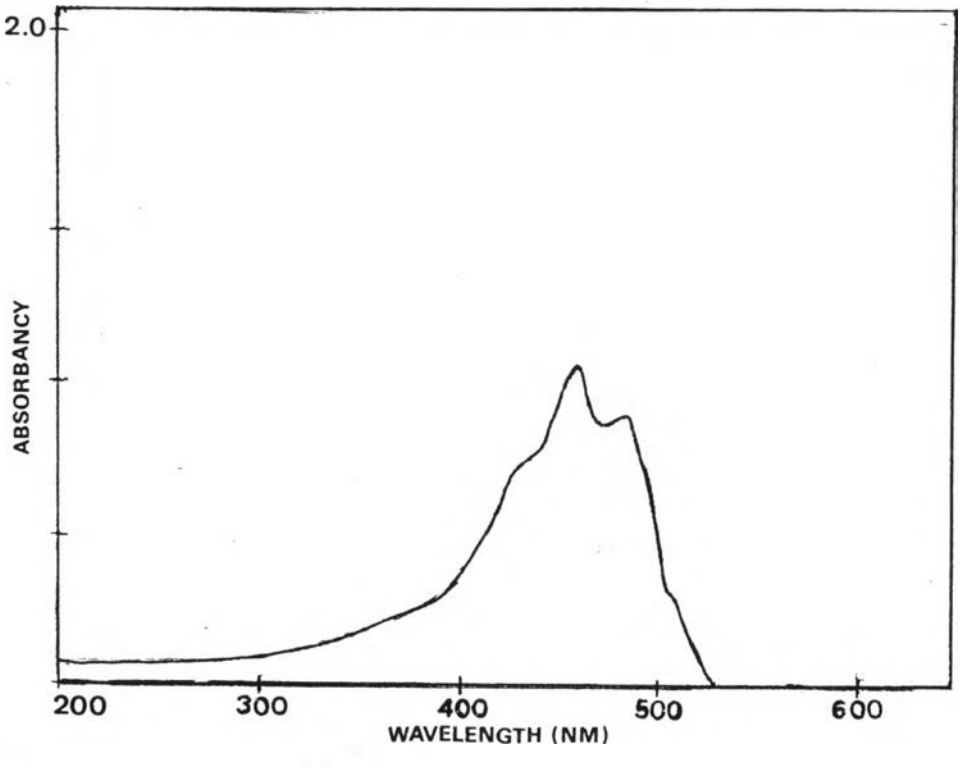
รูปที่ 11 (1) เปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการปั่นก่อนการสกัด

(2) เปลือกส้มเขียวหวานที่ผ่านการปั่นหลังการสกัดซ้ำ 4 ครั้ง

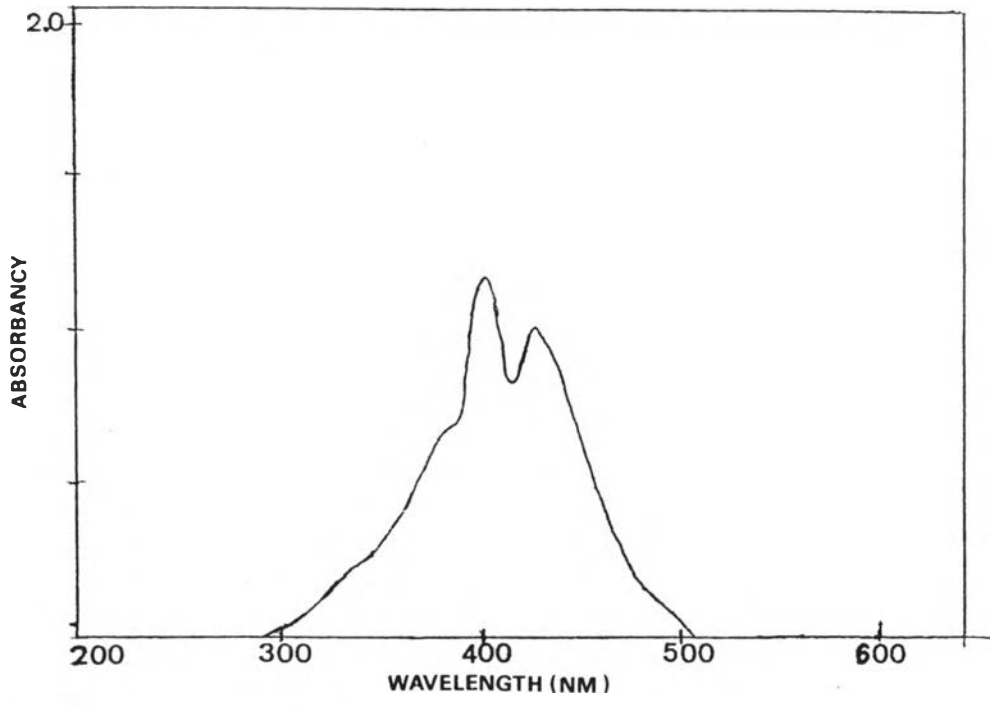
จากรูปที่ 11-1 แสดงเปลือกส้มเขียวหวานที่ปั่นแล้วแต่ยังไม่ได้สกัดคาโรทีนอยด์ ส่วนรูปที่ 11-2 แสดงเปลือกส้มเขียวหวานที่ปั่นแล้วและผ่านการสกัดคาโรทีนอยด์ โดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายในการสกัด ในอัตราส่วนตัวทำละลายกับเปลือกส้มเท่ากับ 2.5:1 ปริมาตรต่อน้ำหนัก ด้วยอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการกวนนาน 25 นาที จะเห็นว่าเปลือกส้มก่อนการสกัด (รูปที่ 11-1) เปลือกส้มจะมีสีเหลืองและสด จะมีลักษณะเป็นผงแห้งไม่มีสีเหลือง (รูปที่ 11-2)

ผลการจำแนกชนิดคาโรทีนอยด์ในสารละลายสกัด

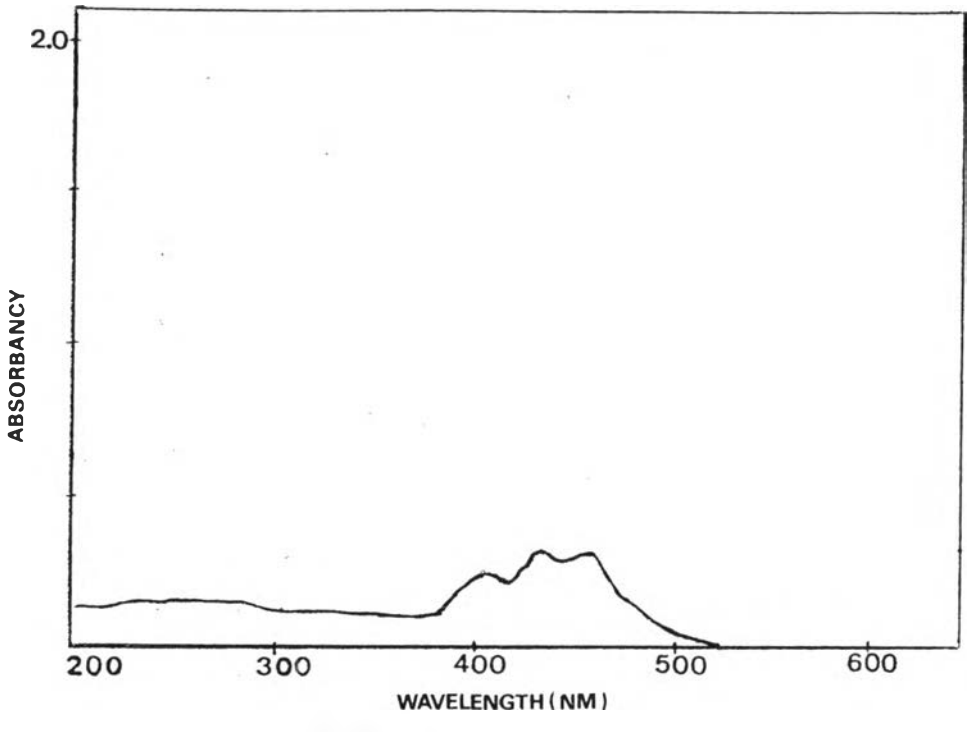
จำแนกชนิดคาโรทีนอยด์ในสารละลายที่สกัดได้ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบผิวบางและสเปคโตรโฟโตเมตรี นำสารละลายที่สกัดได้ตามวิธี 2.1 (รูปที่ 5) และใช้ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดที่ได้จากการทดลอง คือ ใช้อะซีโตน เป็นตัวทำละลายในการสกัด ในอัตราส่วนตัวทำละลายกับเปลือกส้มเท่ากับ 2.5:1 ปริมาตรต่อน้ำหนัก กวนนาน 25 นาที ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มาแยกคาโรทีนอยด์บนแผ่นโครมาโตกราฟีอะลูมิเนียมที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล จี 60 และใช้ตัวทำละลายผสมอะซีโตนกับเฮกเซนในอัตราส่วน 25:75 โดยปริมาตร เป็นตัวพา หาค่า R_f ของคาโรทีนอยด์ที่แยกได้บนแผ่นโครมาโตกราฟี และนำไปตรวจลักษณะการดูดกลืนคลื่นแสง (absorption spectrum) ด้วย UV-visible-spectrophotometor โดยscanในช่วง 200-600 นาโนเมตร แล้วเทียบกับค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของคาโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ (ภาคผนวก ข) จากการทดลองได้ผลดังแสดงในรูปที่ 12-14 และตารางที่ 10



รูปที่ 12 รูปแบบการดูดกลืนคลื่นแสง (absorption spectrum) ของจุดบนแผ่นโครมาโตกราฟีที่มีค่า R_f=0.95 เมื่อสกัดออกจากแผ่นโครมาโตกราฟี



รูปที่ 13 รูปแบบการดูดกลืนคลื่นแสง (absorption spectrum) ของจุดบนแผ่นโครมาโตกราฟีที่มีค่า R_f=0.91 เมื่อสกัดออกจากแผ่นโครมาโตกราฟี



รูปที่ 14 รูปแบบการดูดกลืนคลื่นแสง (absorption spectrum) ของจุดบนแผ่นโครมาโตกราฟีที่มีค่า R_f=0.83 เมื่อสกัดออกจากแผ่นโครมาโตกราฟี

ตารางที่ 10 การจำแนกชนิดคาโรทีนอยด์ในเปลือกส้มเขียวหวาน ที่สกัดได้ในสารละลายเฮกเซนด้วยค่า R_f และค่า λ_{max}

R_f	λ_{max} (nm)	คาโรทีนอยด์
0.95	425, 450, 477	เบตาคาโรทีน
0.91	380, 400, 425	ซีตาคาโรทีน
0.83	407, 427, 454	เบตาซีแซนทิน

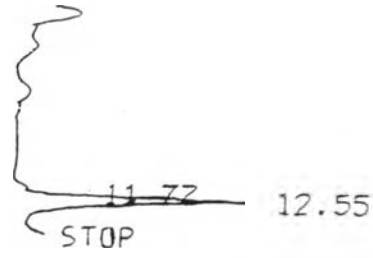
ผลการทำสารละลายสกัดให้บริสุทธิ์บางส่วน

นำสารละลายสกัดที่ได้จากการสกัดตามวิธี 2.1 (รูปที่ 5) ใช้ภาวะในการสกัดที่ได้จากการทดลองคือใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายในการสกัด ในอัตราส่วนตัวทำละลายกับเปลือกส้มเขียวหวานเท่ากับ 2.5:1 ปริมาตรต่อน้ำหนัก กวนนาน 25 นาที สกัดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ตรวจคาโรทีนอยด์ในสารละลายสกัดก่อนและหลังผ่านกระบวนการ saponification โดยวิธีโครมาโตกราฟีแบบผิวบางใช้แผ่นโครมาโตกราฟีอะลูมิเนียมที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล จี 60 และตัวทำละลาย คืออะซีโตนกับเฮกเซนในอัตราส่วน 25:75 โดยปริมาตร จากการทดลอง พบว่าแถบสีของสารละลายสกัดก่อนและหลังผ่านกระบวนการ saponification ที่แยกได้บนแผ่นโครมาโตกราฟี หลังจากวางในบรรยากาศอิ่มตัวด้วยตัวทำละลาย ปรากฏว่ามีแถบสีเหมือนกัน แสดงว่าคาโรทีนอยด์ในสารละลายสกัดที่ผ่าน saponification ยังคงมีคาโรทีนอยด์เหมือนในสารละลายสกัดก่อนผ่าน saponification

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเบตาคาโรทีน (β-carotene) ในสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้น

นำสารละลายสกัดที่สกัดตามวิธีข้อ 2.1 (รูปที่ 5) ใช้ภาวะในการสกัดที่ได้จากการทดลองคือใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายในการสกัด ในอัตราส่วนตัวทำละลายกับเปลือกส้มเขียวหวานเท่ากับ 2.5:1 ปริมาตรต่อน้ำหนัก กวนนาน 25 นาที สกัดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และทำให้บริสุทธิ์โดย กระบวนการ saponification ด้วยสารละลาย methanolic KOH มาวิเคราะห์หาปริมาณเบตาคาโรทีนด้วยวิธี HPLC ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากการทดลองพบว่าเบตาคาโรทีนมีค่า retention time เป็น 12.55 นาที ส่วนสารละลายสกัดหลังฉีดเข้าเครื่อง HPLC ปรากฏว่ามี peak ที่มีค่า retention time เป็น 12.54 นาที แสดงว่า peak นี้เป็นเบตาคาโรทีน ดังแสดงในรูปที่ 15 และเมื่อหาปริมาณเบตาคาโรทีนโดยการเทียบกับ standard curve (ภาคผนวก ก) พบว่าสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้นมีเบตาคาโรทีนในปริมาณ 10.14 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเปลือกส้มแห้ง หรือมีค่าเป็นร้อยละ 11.15 ของคาโรทีนอยด์ทั้งหมด และเมื่อคำนวณเป็นอัตราส่วนระหว่างคาโรทีนอยด์ทั้งหมดที่สกัดได้(90.91 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเปลือกส้มแห้ง) ต่อเบตาคาโรทีน จะมีค่าเท่ากับ 9:1 โดยน้ำหนัก

START 21.06.14.43.

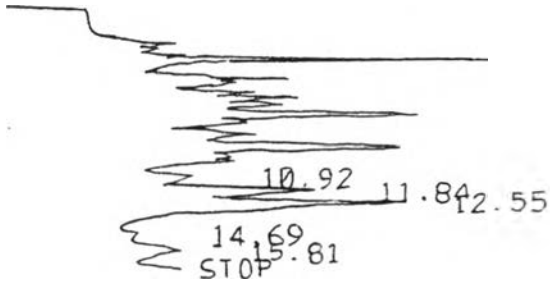


C-RIA
SMPL # 00
FILE # 2
REPT # 1665
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		11.77	2.6064		1598
0		12.55	97.3935	V	59728
	TOTAL		99.9999		61326

(1)

START 21.06.15.15.



C-RIA
SMPL # 00
FILE # 2
REPT # 1667
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		10.92	7.7499		14419
0		11.84	26.0208	V	48412
0		12.55	56.4456	V	105019
0		14.69	1.0368		1929
0		15.81	8.7466		16273
	TOTAL		100		186054

(2)

รูปที่ 15 โครมาโตแกรม (chromatogram) ของ (1) สารมาตรฐานเบตาคาโรทีน และ (2) รงควัตถุที่สกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน

ผลการศึกษาหาสารปนเปื้อนและตัวทำละลายตกค้างในสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้น

1. ผลการวิเคราะห์หาสารปนเปื้อน คือ ปริมาณสารหนู (As) สารตะกั่ว (Pb) และทองแดง (Cu) ในสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้นที่สกัดจากเปลือกส้มเขียวหวาน ตามวิธีข้อ 2.1 (รูปที่ 5) ใช้ภาวะในการสกัดที่ได้จากการทดลองคือใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายในการสกัดในอัตราส่วนตัวทำละลายกับเปลือกส้มเขียวหวานเท่ากับ 2.5:1 ปริมาตรต่อน้ำหนักกวนนาน 25 นาที สกัดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และทำให้บริสุทธิ์บางส่วนโดยกระบวนการ saponification ด้วยสารละลาย methanolic KOH วิเคราะห์หาสารปนเปื้อนด้วยวิธี atomic absorption spectrophotometry (AAS) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ให้ผลดังนี้

ตารางที่ 11 ปริมาณสารหนู สารตะกั่ว และทองแดงในสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้น

สารปนเปื้อน	ปริมาณที่พบ (ppb)
สารหนู (As)	น้อยกว่า 0.100
สารตะกั่ว (Pb)	น้อยกว่า 0.500
ทองแดง ((Cu)	น้อยกว่า 0.500

จากผลการทดลองนี้เมื่อเปรียบเทียบกับประกาศของกระทรวงสาธารณะสุขและ FDA กำหนดคือสารหนูมีได้ไม่เกิน 3 ppm และสารตะกั่วมีได้ไม่เกิน 10 ppm จะเห็นว่าสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์ที่สกัดได้มีค่าต่ำกว่า

2. ผลการวิเคราะห์หาตัวทำละลายตกค้าง คือ อะซีโตนและเฮกเซน ในสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้นที่สกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานตามวิธีข้อ 2.1 (รูปที่ 5) ใช้ภาวะในการสกัดที่ได้จากการทดลอง คือใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายในการสกัด ในอัตราส่วนตัวทำละลายกับเปลือกส้มเขียวหวานเท่ากับ 2.5:1 ปริมาตรต่อน้ำหนัก กวนนาน 25 นาที สกัดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และทำให้บริสุทธิ์โดยกระบวนการ saponification ด้วยสารละลาย methanolic KOH โดยใช้กาซโครมาโตกราฟี (gas chromatography, GC)

ตารางที่ 12 ค่า retention time ของอะซีโตนและสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์

ชนิดของสารวิเคราะห์	retention time (นาที)
อะซีโตน	0.75
สารละลายสกัดคาโรทีนอยด์	1.15

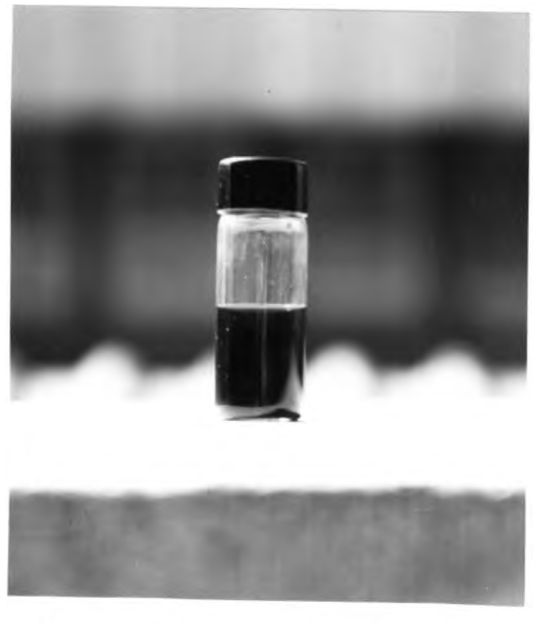
ตารางที่ 13 ค่า retention time ของเฮกเซนและสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้น

ชนิดของสารวิเคราะห์	retention time (นาที)
เฮกเซน	2.70
สารละลายสกัดคาโรทีนอยด์	2.90

จากผลการทดลองวิเคราะห์หาอะซีโตนไม่พบ peak ที่มีค่า retention time เท่ากัน เช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาเฮกเซน แสดงว่าไม่มีตัวทำละลายตกค้างทั้งสองชนิดนี้อยู่ในสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้นที่สกัดได้

ผลการศึกษาเสถียรภาพของสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้น

สารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้นจากเปลือกส้มเขียวหวานที่ได้จากการสกัดตามวิธีข้อ 2.1(รูปที่ 5)โดยใช้ภาวะที่ได้จากการทดลองคือใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายในการสกัดในอัตราส่วนตัวทำละลายกับเปลือกส้มเขียวหวานเท่ากับ 2.5:1 ปริมาตรต่อน้ำหนัก กวนนาน 25 นาที สกัดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และทำให้บริสุทธิ์บางส่วนโดยกระบวนการ saponification ด้วยสารละลาย methanolic KOH บรรจุในขวดแก้วชนิดฝาเกลียว (รูปที่ 16)และหุ้มด้วยกระดาษฟอยล์เพื่อป้องกันแสงสว่าง โดยศึกษาเสถียรภาพของสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้นที่อุณหภูมิการเก็บ 3 ระดับ คือ อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง (-18±2 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิห้องเย็น (4±2 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส)โดยเก็บเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ สุ่มตัวอย่างทุกสัปดาห์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณคาโรทีนอยด์ทั้งหมดและคำนวณเป็นค่า carotenoids retention (%) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แสดงผลในตารางที่ 14



รูปที่ 16 สารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้น

ตารางที่ 14 ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่อ carotenoids retention(%) ของสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้น

ระยะเวลาการเก็บ (สัปดาห์)	carotenoids retention (%)		
	อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง	อุณหภูมิห้องเย็น	อุณหภูมิห้อง
0	$100.00^{a} \pm 0.00$	$100.00^{a} \pm 0.00$	$100.00^{a} \pm 0.00$
1	$99.78^{ab} \pm 0.13$	$99.36^{bcd} \pm 0.42$	$96.11^{i} \pm 0.41$
2	$99.51^{abc} \pm 0.13$	$98.59^{ef} \pm 0.32$	$92.79^{k} \pm 0.25$
3	$99.12^{cde} \pm 0.28$	$97.17^{h} \pm 0.23$	$90.40^{m} \pm 0.46$
4	$98.88^{def} \pm 0.13$	$96.23^{i} \pm 0.38$	$87.32^{n} \pm 0.47$
5	$98.37^{f} \pm 0.29$	$94.85^{j} \pm 0.19$	$83.20^{o} \pm 0.37$
6	$97.73^{g} \pm 0.28$	$91.47^{l} \pm 0.48$	$78.36^{p} \pm 0.42$
7	$96.96^{h} \pm 0.20$	$87.36^{n} \pm 0.46$	$73.66^{q} \pm 0.22$
8	$96.11^{i} \pm 0.35$	$83.62^{o} \pm 0.40$	$68.64^{r} \pm 0.62$

หมายเหตุ a,b,c... ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าการเก็บสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้นที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็งมีผลให้ปริมาณการลดลงของคาโรทีนอยด์มีค่าต่ำกว่า การเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็นและอุณหภูมิห้อง และเมื่อพิจารณาระยะเวลาการเก็บจะเห็นว่าปริมาณการลดลงของคาโรทีนอยด์มีค่าต่ำลง เมื่อเพิ่มระยะเวลาการเก็บ จากการทดลองพบว่าการเก็บที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็งนาน 8 สัปดาห์ ปริมาณการลดลงของคาโรทีนอยด์มีค่าต่ำกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็นและอุณหภูมิห้องอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้น

Source of variance	df	MS	F
อุณหภูมิการเก็บ (A)	2	1166.075	1064*
ระยะเวลาการเก็บ (B)	8	303.946	2744*
AB	16	64.938	592*
Error	54	0.111	

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าอิทธิพลร่วมของอุณหภูมิในการเก็บกับระยะเวลาการเก็บมีผลต่อ carotenoids retention(%) อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ผลของอิทธิพลร่วมปัจจัยทั้งสองต่อ carotenoids retention (%) แสดงดังตารางที่ 15

จากผลการทดลองตารางที่ 14 สามารถหาค่าครึ่งชีวิตได้จากสมการเส้นตรง และแสดงในรูปที่ 17

$$y = a + bx$$

โดย y = carotenoids retention (%)

t = ระยะเวลาการเก็บ (สัปดาห์)

$y = 100.38 - 0.47t$ ($R^2 = 0.99$) ..... อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง

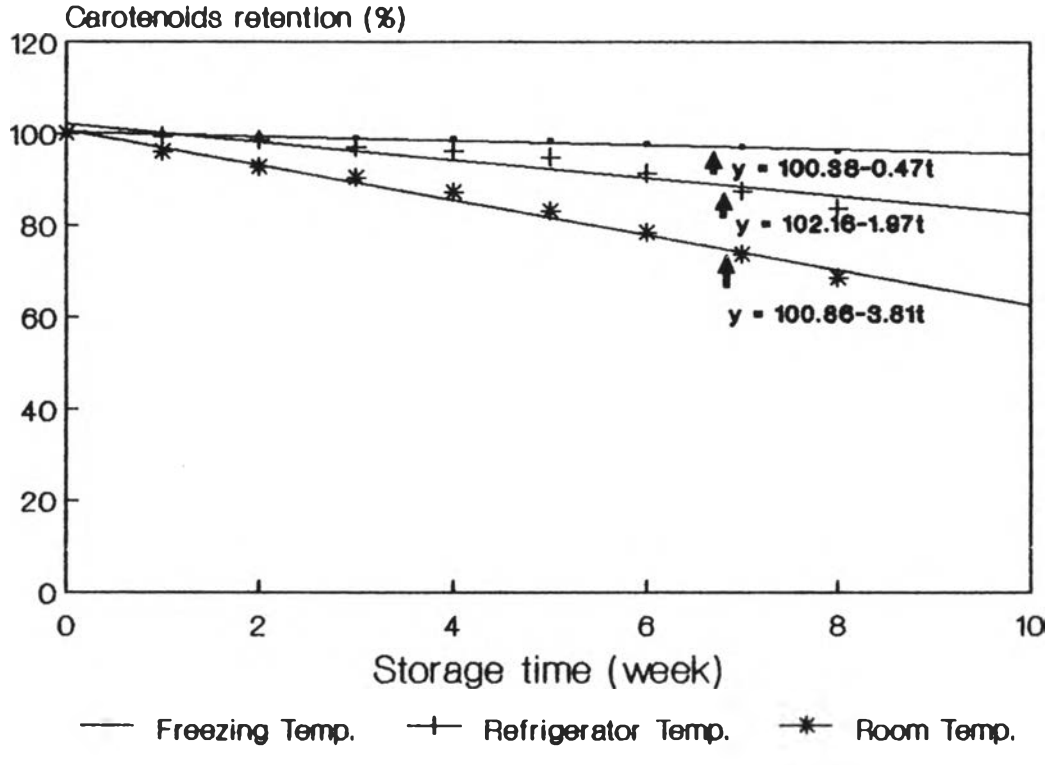
ค่าครึ่งชีวิต คือ $t_{1/2}$ = 751 วัน

$y = 102.16-1.97t$ ($R^2=0.95$) ..... อุณหภูมิห้องเย็น

ค่าครึ่งชีวิต คือ $t_{1/2} = 187$ วัน

$y = 100.86-3.81t$ ($R^2=0.99$) ..... อุณหภูมิห้อง

ค่าครึ่งชีวิต คือ $t_{1/2} = 94$ วัน

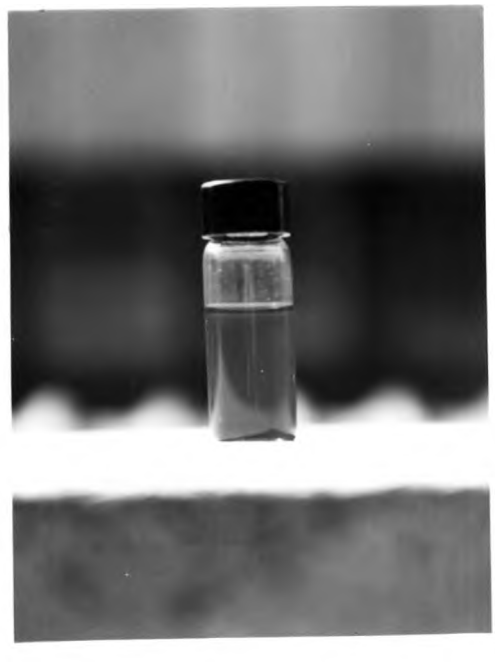


รูปที่ 17 ค่า carotenoids retention (%) ของสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้น ในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 8 สัปดาห์

จากรูปที่ 17 จะเห็นว่าค่า carotenoids retention (%) ของสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้นในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ ระยะเวลาการเก็บ นาน 8 สัปดาห์ การเก็บที่อุณหภูมิต่ำๆ ปริมาณการลดลงของคาโรทีนอยด์มีค่าต่ำกว่าการเก็บที่อุณหภูมิสูงๆ เมื่อระยะเวลาการเก็บนานเท่ากัน

ผลการศึกษาเสถียรภาพของสารละลายคาโรทีนอยด์ในรูปสารละลายในน้ำมันพืช

นำสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์จากเปลือกส้มเขียวหวานที่ได้จากการสกัด ตามวิธีข้อ 2.1 (รูปที่ 5) โดยใช้ภาวะที่ได้จากการทดลองคือใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายในการสกัดในอัตราส่วนตัวทำละลายกับเปลือกส้มเขียวหวานเท่ากับ 2.5:1 ปริมาตรต่อน้ำหนัก กวนนาน 25 นาที สกัดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และทำให้บริสุทธิ์โดยกระบวนการ saponification ด้วยสารละลาย methanolic KOH มาผสมกับน้ำมันพืชที่เติม และ ไม่เติมสารแอนตีออกซิแดนท์ ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยปริมาตร นำไปกวนด้วยความร้อน 40 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที บรรจุสารละลายในขวดแก้ว (รูปที่ 18) และหุ้มกระดาษฟอยด์เพื่อป้องกันแสงสว่าง นำมาศึกษาเสถียรภาพของสารละลายคาโรทีนอยด์ในน้ำมันถั่วเหลืองที่เติมและไม่เติมสารแอนตีออกซิแดนท์ โดยเก็บที่อุณหภูมิการเก็บ 3 ระดับ คือ อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง (-18±2 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิห้องเย็น (4±2 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) โดยเก็บเป็นเวลานาน 12 สัปดาห์ สุ่มตัวอย่างทุกสัปดาห์ เพื่อวิเคราะห์ปริมาณคาโรทีนอยด์ทั้งหมดและคำนวณเป็นค่า carotenoids retention (%) ทดลอง 3 ซ้ำ แสดงผลในตารางที่ 16



รูปที่ 18 สารละลายสกัดคาโรทีนอยด์ในรูปสารละลายในน้ำมันถั่วเหลือง

ตารางที่ 16 carotenoids retention (%) ของสารละลายคาโรทีนอยด์ในน้ำมันถั่วเหลืองที่เติมและไม่เติม BHT ในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง อุณหภูมิห้องเย็น และอุณหภูมิห้อง ระยะเวลาการเก็บนาน 12 สัปดาห์

อุณหภูมิการเก็บ	ระยะเวลาการเก็บ (สัปดาห์)	carotenoids retention (%)	
		มี BHT	ไม่มี BHT
อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง	0	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	1	99.80 ± 0.14	99.66 ± 0.15
	2	99.57 ± 0.12	99.52 ± 0.54
	3	99.31 ± 0.09	99.21 ± 0.44
	4	99.06 ± 0.10	99.07 ± 0.40
	5	98.89 ± 0.15	98.45 ± 0.54
	6	98.45 ± 0.06	97.53 ± 0.56
	7	97.86 ± 0.23	96.91 ± 1.30
	8	97.12 ± 0.42	96.21 ± 0.81
	9	96.76 ± 0.32	95.68 ± 0.65
	10	95.81 ± 0.90	94.83 ± 0.15
	11	94.27 ± 0.60	93.90 ± 0.64
	12	92.84 ± 0.59	91.62 ± 0.54
อุณหภูมิห้องเย็น	0	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	1	99.19 ± 0.35	98.81 ± 0.23
	2	98.65 ± 0.38	98.16 ± 0.44

ตารางที่ 16 (ต่อ)

อุณหภูมิการเก็บ	ระยะเวลาการเก็บ (สัปดาห์)	carotenoids retention (%)	
		มี BHT	ไม่มี BHT
	3	97.64 ± 1.32	97.10 ± 0.75
	4	96.80 ± 0.67	95.60 ± 0.93
	5	95.26 ± 1.47	94.28 ± 0.72
	6	93.95 ± 0.71	92.70 ± 0.17
	7	91.55 ± 1.64	90.71 ± 1.14
	8	90.20 ± 0.54	89.38 ± 0.15
	9	88.95 ± 1.02	88.00 ± 0.38
	10	87.72 ± 1.32	86.87 ± 1.31
	11	85.08 ± 0.32	84.74 ± 0.52
	12	83.95 ± 0.69	82.81 ± 0.66
อุณหภูมิห้อง	0	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	1	97.09 ± 0.30	96.46 ± 0.81
	2	94.47 ± 1.60	95.36 ± 0.77
	3	92.46 ± 1.71	92.86 ± 1.07
	4	91.23 ± 1.07	91.43 ± 0.99
	5	90.19 ± 0.42	89.36 ± 0.61
	6	88.02 ± 0.66	87.32 ± 0.59
	7	86.02 ± 0.27	85.29 ± 0.40
	8	83.03 ± 0.94	82.85 ± 0.68

ตารางที่ 16 (ต่อ)

อุณหภูมิการเก็บ	ระยะเวลาการเก็บ (สัปดาห์)	carotenoids retention (%)	
		มี BHT	ไม่มี BHT
	9	81.58 ± 0.53	80.57 ± 0.82
	10	78.98 ± 0.66	77.44 ± 1.38
	11	74.56 ± 0.93	73.83 ± 0.95
	12	71.82 ± 0.77	70.08 ± 0.54

ตารางที่ 17 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บของสารละลายคาโรทีนอยด์ในน้ำมันถั่วเหลืองที่เติมและไม่เติม BHT

Source of variance	df	MS	F
BHT(A)	1	19.674	33.90*
อุณหภูมิการเก็บ (B)	2	2267.900	3908.37*
AB	2	0.511	0.88
เวลาการเก็บ (C)	12	559.146	963.60*
AC	12	0.924	1.59
BC	24	64.361	110.92*
ABC	24	0.249	0.43
Error	156	0.580	

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า อิทธิพลร่วมของอุณหภูมิการเก็บกับระยะเวลาการเก็บมีผลต่อ carotenoids retention (%) ของสารละลายคาโรทีนอยด์ในน้ำมันถั่วเหลืองอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ผลของอิทธิพลร่วมของอุณหภูมิกับระยะเวลาการเก็บต่อค่า carotenoids retention (%) แสดงดังตารางที่ 17 และตารางที่ 18

ตารางที่ 18 ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บต่อ carotenoids retention (%) ของสารละลายคาโรทีนอยด์ในน้ำมันถั่วเหลือง ในระหว่างการเก็บนาน 12 สัปดาห์

ระยะเวลาการเก็บ (สัปดาห์)	carotenoids retention (%)		
	อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง	อุณหภูมิห้องเย็น	อุณหภูมิห้อง
0	100.00^{a} ±0.00	100.00^{a} ±0.00	100.00^{a} ±0.00
1	99.73^{a} ±0.15	99.00^{a} ±0.34	96.77^{fg} ±0.65
2	99.54^{ab} ±0.35	98.40^{cd} ±0.46	94.92^{ij} ±1.22
3	99.26^{abc} ±0.29	97.37^{ef} ±1.00	92.66^{lm} ±1.23
4	99.07^{abc} ±0.26	96.20^{gh} ±0.98	91.33^{n} ±0.93
5	98.67^{bcd} ±0.66	94.77^{ij} ±1.16	89.78^{o} ±0.65
6	98.04^{dc} ±0.66	93.32^{kl} ±0.82	87.67^{pq} ±0.67
7	97.38^{ef} ±0.95	91.13^{n} ±1.35	85.65^{r} ±0.50
8	96.67^{fg} ±0.76	89.79^{o} ±0.55	83.28^{s} ±1.26
9	96.22^{gh} ±0.75	88.48^{p} ±0.86	81.07^{t} ±0.83
10	95.32^{hi} ±0.79	87.29^{q} ±1.27	78.04^{u} ±1.11
11	94.09^{ik} ±0.59	84.91^{r} ±0.43	74.19^{v} ±0.93
12	92.23^{m} ±0.84	83.38^{s} ±0.87	70.95^{w} ±1.12

หมายเหตุ a,b,c...ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าการเก็บสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์ในน้ำมันถั่วเหลืองที่เติมหรือไม่เติมแอนตีออกซิแดนซ์ ที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็งมีผลให้ปริมาณการลดลงของคาโรทีนอยด์มีค่าต่ำกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็นและอุณหภูมิห้อง และเมื่อพิจารณาระยะเวลา

การเก็บจะเห็นว่าปริมาณการลดลงของคาโรทีนอยด์มีค่าต่ำลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาการเก็บ จากการทดลอง พบว่า การเก็บที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็งนาน 12 สัปดาห์ ปริมาณการลดลงของคาโรทีนอยด์มีค่าต่ำกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็นและอุณหภูมิห้องอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และจากผลการทดลองสามารถหาค่าครึ่งชีวิตได้จากสมการเส้นตรง (รูปที่ 19)

$$y = a + bt$$

โดย y = carotenoids retention (%)

t = ระยะเวลาการเก็บ (สัปดาห์)

$y = 100.73-0.56t$ ($R^2=0.95$).... อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง

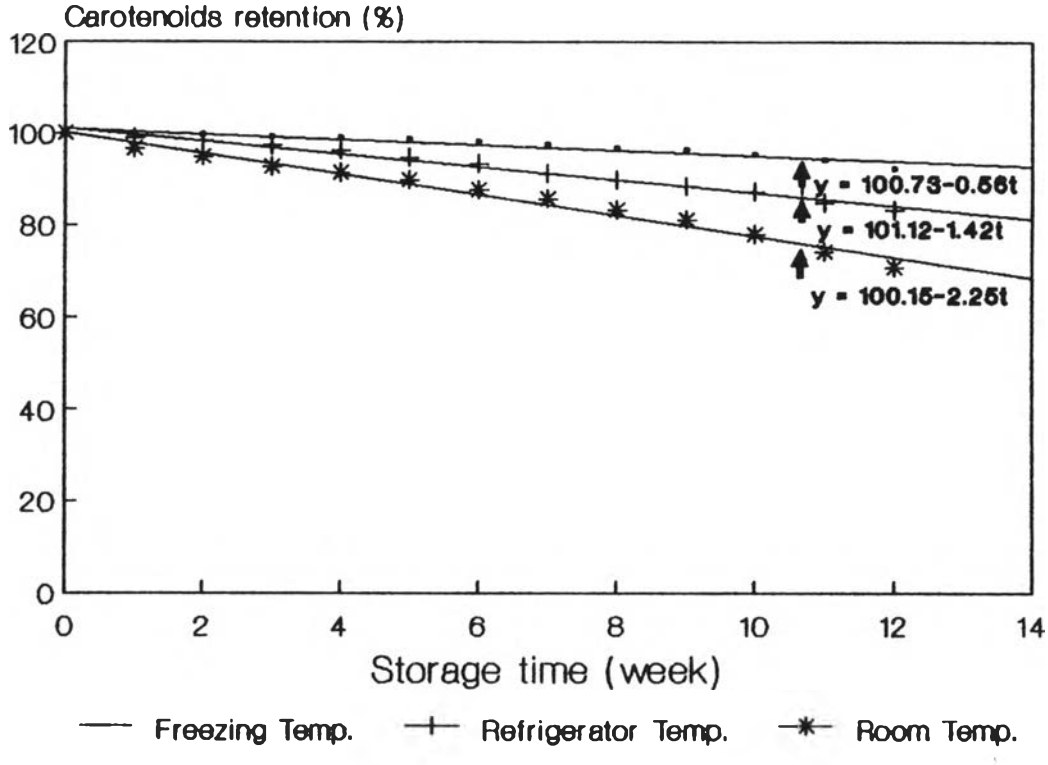
ค่าครึ่งชีวิต คือ $t_{1/2} = 696$ วัน

$y = 101.12-1.42t$ ($R^2=0.99$)..... อุณหภูมิห้องเย็น

ค่าครึ่งชีวิต คือ $t_{1/2} = 252$ วัน

$y = 100.16-2.25t$ ($R^2=0.99$) ..... อุณหภูมิห้อง

ค่าครึ่งชีวิต คือ $t_{1/2} = 156$ วัน



รูปที่ 19 ค่า carotenoids retention (%) ของสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์ในน้ำมันถั่วเหลืองระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นาน 12 สัปดาห์

จากรูปที่ 19 แสดงค่า carotenoids retention (%) ของสารละลายคาโรทีนอยด์ในน้ำมันถั่วเหลืองในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ ระยะการเก็บนาน 12 สัปดาห์ จะเห็นว่าการเก็บสารละลายคาโรทีนอยด์ในน้ำมันถั่วเหลืองที่อุณหภูมิต่ำๆ ปริมาณการลดลงของคาโรทีนอยด์มีค่าต่ำหรือปริมาณคาโรทีนอยด์เหลือมากกว่าการเก็บที่อุณหภูมิสูง เมื่อเก็บในระยะเวลาเท่ากัน

เมื่อเปรียบเทียบเสถียรภาพของสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้น กับ สารละลายสกัดคาโรทีนอยด์ในน้ำมันถั่วเหลือง โดยพิจารณาจากค่าครึ่งชีวิตที่ได้จากการเก็บที่อุณหภูมิเดียวกันและระยะเวลาการเก็บเท่ากัน (8 สัปดาห์) ค่าครึ่งชีวิตของสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้นที่ได้จากผลการทดลอง (หน้า 62-63) ที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง อุณหภูมิห้องเย็น และอุณหภูมิห้อง มีค่าเป็น 751 วัน 187 วัน และ 94 วัน ตามลำดับ ส่วนค่าครึ่งชีวิตของสาร

ละลายคาโรทีนอยด์ในน้ำมันถั่วเหลืองที่อุณหภูมิแช่เยือกแข็ง มีค่าเป็น 882 วัน จากสมการ y=100.30-0.40t ที่อุณหภูมิห้องมีค่า 276 วัน จากสมการ y=100.70-1.29t และที่อุณหภูมิห้องมีค่า 176 วัน จากสมการ y=99.18-1.96t ตามลำดับ

ผลการศึกษาการเติมสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้นในผลิตภัณฑ์น้ำส้ม

เตรียมน้ำส้มคั้นจากส้มเขียวหวาน เติมสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้นที่ได้จากการสกัดจากเปลือกส้มเขียวหวานสกัดตามวิธีข้อ 2.1(รูปที่ 5)โดยใช้ภาวะที่ได้จากการทดลอง คือ ใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายในการ สกัดในอัตราส่วนตัวทำละลายกับเปลือกส้มเขียวหวานเท่ากับ 2.5:1 ปริมาตรต่อน้ำหนัก กวนนาน 25 นาที สกัดที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และทำให้บริสุทธิ์โดยกระบวนการ saponification ด้วยสารละลาย methanolic KOH ในน้ำส้มคั้นโดยแปรปริมาณสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้นเป็น 6 ระดับ คือ 0.00 0.02 0.04 0.06 0.08 และ 0.10 มิลลิลิตรต่อน้ำส้ม 100 มิลลิลิตร นำน้ำส้มไปกวนที่ 45 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วพาสเจอไรซ์ด้วยความร้อน นำน้ำส้มไปวัดค่าสีด้วยเครื่อง chromameter ซึ่งแสดงในค่าของ L a และ b ดังในตารางที่ 19

ตารางที่ 19 ค่าสีของน้ำส้มคั้นที่แปรปริมาณสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้น

สารละลายสกัดคาโรทีนอยด์เข้มข้น (มิลลิลิตรต่อ100 มิลลิลิตรน้ำส้มคั้น)	L	a	b
0.00	$41.47^{a} \pm 0.04$	$-3.71^{f} \pm 0.02$	$35.10^{a} \pm 0.04$
0.02	$39.61^{b} \pm 0.01$	$-3.22^{e} \pm 0.01$	$35.52^{d} \pm 0.20$
0.04	$39.49^{c} \pm 0.01$	$-3.04^{d} \pm 0.00$	$35.86^{c} \pm 0.16$
0.06	$39.59^{bc} \pm 0.08$	$-2.78^{c} \pm 0.04$	$36.09^{c} \pm 0.09$
0.08	$39.37^{d} \pm 0.06$	$-2.40^{b} \pm 0.02$	$36.74^{b} \pm 0.12$
0.10	$39.26^{e} \pm 0.05$	$-2.09^{a} \pm 0.02$	$38.19^{a} \pm 0.07$

หมายเหตุ a,b,c...ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 19 ค่า L แสดงความสว่าง (L_{100} = white L_{0} = black) ค่า a แสดงค่าสีแดง (+a = red, a_{0} = gray, -a = green) และค่า b แสดงค่าสีเหลือง (+b = yellow, b_{0} = gray, -b = blue) จะเห็นว่าค่า L มีค่าน้อยลง ส่วนค่า a และ ค่า b มีค่ามากขึ้น เมื่อน้ำส้มคั้นมีสารละลายสกัดคาโรทีนอยด์ปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงว่าในน้ำส้มคั้นมีรงควัตถุเพิ่มขึ้น รวมทั้งค่าสีแดงและสีเหลืองเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน