abst.

ข้อมูลข่าวสารของกรมวิทยาศาสตร์บริการ
ตาม พ.ร.บ. ข้อมูลข่าวสารของราชการ พ.ศ. 2540

วศ กช
อว 54

เอกสารผลงานที่เสนอให้ประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรง

ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 7 ว

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100 % เมื่อเก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา

โดย

นางสาวนงนุช เมธียนต์พิริยะ
นักวิทยาศาสตร์ 6 ว

กลุ่มงานชีวเคมี กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

เอกสารผลงานที่เสนอให้ประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรง

ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 7 ว

เลขหมู่ อศ กช
อก 5A
เลขทะเบียน 11595
วันที่ 16 ธ.ค. 46

ด้วยอภินันทนาการ
จาก
อศ.

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100 % เมื่อเก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา

โดย

นางสาวนงนุช เมธียนต์พิริยะ
นักวิทยาศาสตร์ 6 ว

กลุ่มงานชีวเคมี กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

บทคัดย่อ

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100 % ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา ที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบว่า น้ำส้มในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาเก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณวิตามินซีลดลงร้อยละ 45.7 และ 39.1 ตามลำดับ สำหรับน้ำส้มเก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณวิตามินซีลดลงร้อยละ 43.0 และ 37.5 ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสจะลดลงอย่างมากในช่วง 10 วันแรก คือ ลดลงร้อยละ 15.9-34.2 ในขวดแก้วใส และร้อยละ 9.0-28.8 ในขวดแก้วสีชา ในทำนองเดียวกันเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณวิตามินซีจะลดลงลดลงร้อยละ 13.6-33.2 ในขวดแก้วใส และร้อยละ 9.0-30.5 ในขวดแก้วสีชา เมื่อนำร้อยละของวิตามินซีที่ลดลงเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียสมาเปรียบเทียบกัน พบว่าปริมาณของวิตามินซีที่เก็บที่อุณหภูมิ 30 จะมากกว่าที่เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100 % ที่เก็บในขวดแก้วใสมีการลดลงของปริมาณวิตามินซีมากกว่าที่เก็บในขวดแก้วสีชา ไม่ว่าที่อุณหภูมิใด และลดลงอย่างมากในช่วง 10 วันแรก จึงไม่ควรเก็บน้ำส้มหรือน้ำผลไม้ไว้เกินกว่า 10 วัน และไม่ควรเก็บไว้ในที่อุณหภูมิสูงเกินกว่า 25 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ได้ศึกษาความเที่ยงและถูกต้องของวิธีวิเคราะห์วิตามินซีในตัวอย่างน้ำส้ม100 % ด้วยวิธี spectrophotomeric ได้ค่าร้อยละของปริมาณคืนกลับ (%recovery) เท่ากับ 100.7 และความเที่ยงได้ค่า % Relative standard deviation (%RSD) เท่ากับ 2.89 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ เป็นการยืนยันว่าวิธีดังกล่าวมีประสิทธิภาพดีให้ผลการวิเคราะห์วิตามินซีที่น่าเชื่อถือ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ i

สารบัญ ii

1. บทนำ 1

1.1 คำนำ 1

1.2 ความเป็นมาของปัญหา 3

1.3 วัตถุประสงค์ 4

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ 4

1.5 ระยะเวลาดำเนินการ 4

2. วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ และวิธีดำเนินการ 5

2.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทดลอง 5

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ 5

2.3 สารเคมีและวิธีการเตรียม 5

2.4 การดำเนินงาน 7

2.5 การศึกษาความเที่ยงและความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์วิตามินซีในตัวอย่างน้ำส้ม 100 % 9

2.6 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100 % ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา ที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน 10

3. ผลการทดลอง 12

3.1 ศึกษาความเที่ยงและความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์วิตามินซี ในน้ำส้ม 100 % 12

3.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100% ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา ที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน 12

4. วิจารณ์ผลการทดลอง 13

4.1 ศึกษาความเที่ยงและความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์วิตามินซี ในน้ำส้ม 100 % 13

4.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100% ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา 13

5. สรุปผลการทดลอง 14

5.1 การพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์วิตามินซี 14

หน้า

5.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณวิตามินซีที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา โดยใช้ตัวอย่างน้ำส้ม 100% เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน 14

6. กิตติกรรมประกาศ 15

7. เอกสารอ้างอิง 16

8. ภาคผนวก

ภาคผนวก ก ตาราง 17

ตารางที่ 1 แสดงผลการศึกษาหาค่าความเที่ยงและค่าความถูกต้องในการวิเคราะห์วิตามินซี ในตัวอย่างน้ำส้ม 100 % จำนวน 7 ซ้ำ 17

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณวิตามินซีที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน 18

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณวิตามินซีที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน 19

ตารางที่ 4 ผลการเปรียบเทียบปริมาณวิตามินซีที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา ที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน 20

ภาคผนวก ข กราฟ 21

กราฟที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินซีในน้ำส้ม 100% ที่เก็บในขวดใสและขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน 21

กราฟที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินซีในน้ำส้ม 100% ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน 22

กราฟที่ 3 แสดงผลเปรียบเทียบร้อยละของวิตามินซีที่ลดลงในน้ำส้ม 100%ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน 23

กราฟที่ 4 แสดงผลเปรียบเทียบร้อยละของวิตามินซีที่ลดลงในน้ำส้ม 100%ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน 24

1. บทนำ

1.1 คำนำ

วิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) มีสูตรทางเคมี $C_6H_8O_6$ (M.W. 176.12) ลักษณะเป็นผลึกหรือผงสีขาว ละลายได้ดีในน้ำ และเอทานอลบริสุทธิ์ ไม่ละลายในคลอโรฟอร์ม ในสภาพของสารละลาย 0.5% จะเป็นกรดแก่ [5,10] (ค่าความเป็นกรด-ด่าง 2.2-2.55) นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียมหรือแคลเซียม เช่น โซเดียมแอสคอร์เบท (sodium ascorbate) ซึ่งละลายได้ดีในน้ำ แต่ไม่ละลายในเอทานอล อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.6-7.0 แอสคอร์บิลพาลมิเตท (ascorbyl palmitate) จะคงสภาพและละลายได้ดีในไขมัน ที่อุณหภูมิห้องจะช้ามากแต่จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น [5] ละลายได้ในเอทานอลและละลายได้เล็กน้อยในอีเทอร์ แต่ไม่ละลายน้ำ

ในธรรมชาติวิตามินซีมีอยู่หลายรูปแบบ (ไอโซเมอร์) แต่มีเพียงสองรูปแบบเท่านั้นที่มีสมบัติทางชีวเคมี [6] คือ L-ascorbic acid (reduced form) และ L-dehydroascorbic acid (oxidized form) เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของวิตามินซีนั้น มี di-enol group ตำแหน่งที่ 2 และ 3 ของคาร์บอนอะตอม จึงมีความไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้กรดแอสคอร์บิกเปลี่ยนเป็น diketo group คือ L-dehydroascorbic acid ปฏิกิริยาของการออกซิเดชันในขั้นนี้เป็นปฏิกิริยาชนิดย้อนได้ (reverse oxidation) ดังนั้นในธรรมชาติ L-ascorbic acid และ L-dehydroascorbic acid มักจะอยู่ในสภาพที่สมดุลกันในอาหาร

วิตามินทั้งสองรูปแบบนี้ร่างกายมนุษย์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้เหมือนกัน หน้าที่สำคัญในร่างกายคือ [5,6,7,10]

(1) เป็นสารจำเป็นในการเปลี่ยนโปรลีน (proline) ให้เป็นไฮดร็อกซีโปรลีน (hydroxy-proline) ที่ใช้ในกระบวนการสร้างคอลลาเจน (collagen) ซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการสมานแผล

(2) เป็นสารจำเป็นในการเปลี่ยนกรดโฟลิก (folic acid) ให้เป็นกรดเตตราไฮโดรโฟลิก (tetrahydrofolic acid) ซึ่งใช้ในการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก

(3) ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมธาตุเหล็กในอาหาร โดยการเปลี่ยน Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} ซึ่งร่างกายสามารถดูดซึมได้ที่ลำไส้เล็ก

(4) เป็นสารที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์ฮอร์โมน epinephrine จากต่อมหมวกไต

(5) เป็นสารจำเป็นในกระบวนการเมตาบอลิซึมของกรดอะมิโนบางตัว เช่น ทริปโตเฟน (tryptophan) ไทโรซีน (tyrosine)

ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับบทบาทของสารอาหารต่อหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันอย่างกว้างขวางขึ้น จากรายงานการทดลองที่แสดงผลการเสริมซึ่งกันและกันของวิตามินซีและวิตามินอีต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกในมนุษย์และสัตว์ จึงมีข้อเสนอแนะว่าการเสริมวิตามินซีและวิตามินอีอาจเป็นผลในการลดความจำเป็นที่จะใช้วิธีรักษาทางเคมีหรือการฉายรังสีของผู้เป็นโรคเนื้องอกหรือโรคมะเร็งได้

ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร วิตามินซีถูกนำมาใช้ในกระบวนการผลิตโดยมีวัตถุประสงค์ที่สำคัญคือ [6,10]

(1) ในอุตสาหกรรมอาหารประเภทผัก เนื้อสัตว์ อาหารทะเล เบียร์ เหล้าไวน์ การเติมวิตามินซีลงไปเพื่อช่วยลดการเปลี่ยนแปลงของสีและความสดของอาหาร

(2) วิตามินซีสามารถชะลอการเกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ หรือมีกลิ่นหืน ในอาหาร เช่น น้ำมัน ไขมันบริโภค ผลิตภัณฑ์นม

(3) ช่วยทำให้แป้งที่นวดแล้ว (dough) ขึ้นฟูดีขึ้น

(4) วิตามินซีช่วยป้องกันการเกิดสารไนโตรซามีน (nitrosamine) จัดเป็นสารก่อมะเร็ง ซึ่งมีสาเหตุจากการใช้ไนไตรท์และไนเตรทในผลิตภัณฑ์เนื้อ

(5) การเติมวิตามินซีในเครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้จะช่วยทดแทนวิตามินซีที่มีตามธรรมชาติที่สลายไปในระหว่างกระบวนการผลิต

แม้ว่าวิตามินซีจะมีประโยชน์หลายประการ แต่ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสร้างเองได้ จะต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น ความต้องการวิตามินซีของคนนั้นแตกต่างกันตามอายุและเพศ ในเอกสาร Food and Nutrition Board [4] กำหนดว่าผู้ใหญ่ควรรับประทานอาหารที่มีวิตามินซี 70-75 มิลลิกรัม/วัน คนหนุ่ม-สาว 70-100 มิลลิกรัม/วัน เด็ก 30-36 มิลลิกรัม/วัน และ100-150 มิลลิกรัม/วัน สำหรับหญิงมีครรภ์และหญิงให้นมลูก การที่วิตามินซีมีความสำคัญต่อสุขภาพจึงได้มีการเติมวิตามินซีในอาหารหลายประเภท โดยเฉพาะเครื่องดื่ม เช่น น้ำผลไม้ ซึ่งปัจจุบันกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 182 (พ.ศ. 2541) เรื่อง ฉลากโภชนาการ [1] ได้กำหนดให้มีการแจ้งปริมาณของคุณค่าทางโภชนาการในฉลากต่อหนึ่งหน่วยบริโภค

แม้ว่าการเติมวิตามินต่างๆในผลิตภัณฑ์อาหารมักจะเติมในปริมาณที่สูงกว่าในธรรมชาติ เนื่องจากวิตามินบางชนิดสูญสลายได้ง่ายในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ โดยเฉพาะวิตามินซีซึ่งสูญสลายเมื่อมีแสงและออกซิเจน จึงได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100% ซึ่งเป็นเครื่องดื่มที่คนไทยนิยมบริโภคมากกว่าเครื่องดื่มชนิดอื่นๆ โดยศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการเก็บน้ำส้มในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

1.2 ความเป็นมาของปัญหา

คนเราจะนึกถึงสุขภาพเป็นอันดับแรก ดังที่มีคำกล่าวที่ว่า ความไม่มีโรคเป็นลาภอันประเสริฐ จะเห็นว่าในปัจจุบันมีการประชาสัมพันธ์ชวนเชื่อในเรื่องเกี่ยวกับอาหารเสริมสุขภาพหรืออาหารที่มีการเพิ่มสารอาหารบางอย่างที่จะช่วยให้มีสุขภาพดีปราศจากโรคภัย จึงมีผู้นิยมซื้ออาหารเหล่านั้นมาบริโภคเป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตามการเสริมสารอาหารเหล่านี้นอกจากเพื่อเสริมสุขภาพและแก้ปัญหาการขาดสารอาหารนั้นๆ เช่น การเสริมวิตามิน บี1และวิตามินบี 2 ในข้าวเสริมวิตามินเพื่อป้องกันการขาดวิตามินบี1และวิตามินบี 2 การเสริมไอโอดีนในไข่เพื่อป้องกันการขาดไอโอดีนโดยเฉพาะในภาพตะวันออกเฉียงเหนือที่มีแหล่งที่มีไอโอดีนน้อย และที่คนหันมาบริโภคอาหารโดยคิดว่าจะช่วยเพิ่มปริมาณวิตามินซีที่ร่างกายต้องการในแต่ละวันได้ทางหนึ่ง คือการบริโภคน้ำผลไม้นั่นเอง[9] เนื่องจากน้ำผลไม้ในประเทศไทยหาซื้อได้ง่าย สะดวกในการบริโภค และราคาไม่แพง ปัจจุบันผู้ผลิตได้มีการเสริมวิตามินซีในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้มากกว่าผลิตภัณฑ์อื่น ซึ่งนอกจากจะเป็นการจูงใจในการเลือกซื้อของผู้บริโภคแล้ว ยังทดแทนวิตามินซีที่มีตามธรรมชาติที่สลายไปในระหว่างกระบวนการผลิตหรือในสภาพที่มีแสงแดดและออกซิเจน อย่างไรก็ตามแม้จะมีรายงานการศึกษาปริมาณวิตามินซีที่สูญสลายในกระบวนการผลิต[3] แต่ยังไม่มีรายงานที่แน่ชัดในเรื่องการสูญสลายในระหว่างการเก็บรักษา หรือผลของอุณหภูมิในระหว่างการเก็บรักษาก่อนถึงผู้บริโภค อัตราการสูญสลายวิตามินซีในน้ำผลไม้ที่บรรจุในภาชนะต่างๆ จึงเป็นเหตุจูงใจให้มีการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100 % ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาซึ่งสามารถป้องกันแสงแดดได้ดีกว่าขวดแก้วใส โดยการเก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิเฉลี่ยของห้องที่ไม่มีเครื่องปรับอากาศ เช่น อุณหภูมิห้อง หรือการเก็บผลิตภัณฑ์ระหว่างรอจำหน่ายในคลังสินค้าหรือร้านค้าต่างๆ และการเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิในห้างสรรพสินค้าหรือในชั้นวางจำหน่ายสินค้าต่างๆ ที่มีเครื่องปรับอากาศ โดยเก็บไว้นาน 30 วัน เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับผู้บริโภคในการเลือกซื้อน้ำผลไม้รวมทั้งเพื่อให้แน่ใจว่ามีวิตามินซีจริงในน้ำผลไม้นั้น และเป็นข้อมูล

แม้ว่าการเติมวิตามินต่างๆในผลิตภัณฑ์อาหารมักจะเติมในปริมาณที่สูงกว่าในธรรมชาติ เนื่องจากวิตามินบางชนิดสูญสลายได้ง่ายในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ โดยเฉพาะวิตามินซีซึ่งสูญสลายเมื่อมีแสงและออกซิเจน จึงได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100% ซึ่งเป็นเครื่องดื่มที่คนไทยนิยมบริโภคมากกว่าเครื่องดื่มชนิดอื่นๆ โดยศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการเก็บน้ำส้มในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

1.2 ความเป็นมาของปัญหา

คนเราจะนึกถึงสุขภาพเป็นอันดับแรก ดังที่มีคำกล่าวที่ว่า ความไม่มีโรคเป็นลาภอันประเสริฐ จะเห็นว่าในปัจจุบันมีการประชาสัมพันธ์ชวนเชื่อในเรื่องเกี่ยวกับอาหารเสริมสุขภาพหรืออาหารที่มีการเพิ่มสารอาหารบางอย่างที่จะช่วยให้มีสุขภาพดีปราศจากโรคภัย จึงมีผู้นิยมซื้ออาหารเหล่านั้นมาบริโภคเป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตามการเสริมสารอาหารเหล่านี้นอกจากเพื่อเสริมสุขภาพและแก้ปัญหาการขาดสารอาหารนั้นๆ เช่น การเสริมวิตามิน บี1และวิตามินบี 2 ในข้าวเสริมวิตามินเพื่อป้องกันการขาดวิตามินบี1และวิตามินบี 2 การเสริมไอโอดีนในไข่เพื่อป้องกันการขาดไอโอดีนโดยเฉพาะในภาพตะวันออกเฉียงเหนือที่มีแหล่งที่มีไอโอดีนน้อย และที่คนหันมาบริโภคอาหารโดยคิดว่าจะช่วยเพิ่มปริมาณวิตามินซีที่ร่างกายต้องการในแต่ละวันได้ทางหนึ่ง คือการบริโภคน้ำผลไม้นั่นเอง[9] เนื่องจากน้ำผลไม้ในประเทศไทยหาซื้อได้ง่าย สะดวกในการบริโภค และราคาไม่แพง ปัจจุบันผู้ผลิตได้มีการเสริมวิตามินซีในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้มากกว่าผลิตภัณฑ์อื่น ซึ่งนอกจากจะเป็นการจูงใจในการเลือกซื้อของผู้บริโภคแล้ว ยังทดแทนวิตามินซีที่มีตามธรรมชาติที่สลายไปในระหว่างกระบวนการผลิตหรือในสภาพที่มีแสงแดดและออกซิเจน อย่างไรก็ตามแม้จะมีรายงานการศึกษาปริมาณวิตามินซีที่สูญสลายในกระบวนการผลิต[3] แต่ยังไม่มีรายงานที่แน่ชัดในเรื่องการสูญสลายในระหว่างการเก็บรักษา หรือผลของอุณหภูมิในระหว่างการเก็บรักษาก่อนถึงผู้บริโภค อัตราการสูญสลายวิตามินซีในน้ำผลไม้ที่บรรจุในภาชนะต่างๆ จึงเป็นเหตุจูงใจให้มีการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100 % ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาซึ่งสามารถป้องกันแสงแดดได้ดีกว่าขวดแก้วใส โดยการเก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิเฉลี่ยของห้องที่ไม่มีเครื่องปรับอากาศ เช่น อุณหภูมิห้อง หรือการเก็บผลิตภัณฑ์ระหว่างรอจำหน่ายในคลังสินค้าหรือร้านค้าต่างๆ และการเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิในห้างสรรพสินค้าหรือในชั้นวางจำหน่ายสินค้าต่างๆ ที่มีเครื่องปรับอากาศ โดยเก็บไว้นาน 30 วัน เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับผู้บริโภคในการเลือกซื้อน้ำผลไม้รวมทั้งเพื่อให้แน่ใจว่ามีวิตามินซีจริงในน้ำผลไม้นั้น และเป็นข้อมูล

สำหรับผู้ประกอบการในการเลือกใช้ภาชนะบรรจุเพื่อป้องกันการสูญสลายของวิตามิน เพื่อยืนยันความถูกต้องและเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ในการศึกษาทดลองนี้ จึงได้ทำการประเมินประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ตามหลักเกณฑ์การประเมินประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์โดยการหาค่าความเที่ยงและความถูกต้อง

สำหรับหลักการของวิธีวิเคราะห์วิตามินซีที่ใช้ คือ spcetrophotometric method [2,8] มีดังนี้ จากสมบัติของ 2,6 ไดคลอโรฟีนอลลินโดฟีนอล (2,6 dicholrophenollindophenol, 2,6 DCP) ที่เมื่ออยู่ในรูปของกรด และไม่มีสีเมื่อถูกรีดิวส์ เมื่อสารละลายตัวอย่างที่อยู่ในสารละลายกรดมาทำปฏิกิริยากับ 2,6 DCP ส่วนเกินที่ไม่ถูกรีดิวส์จะเกิดสีชมพู ดังนั้น ถ้านำสารมาตรฐานวิตามินซีทำปฏิกิริยากับ 2,6 DCP ที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง โดยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างสารทั้งสอง จากนั้นเมื่อนำสารละลายตัวอย่างมาทำปฏิกิริยากับ 2,6 DCP แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร นำมาคำนวณหาปริมาณวิตามินซีในสารละลายตัวอย่างได้จากกราฟมาตรฐาน

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100 % ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา เก็บที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

1.3.2 เพื่อพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์วิตามินซีด้วยวิธี spectrophotometric

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ

1.4.1 เพื่อเป็นข้อมูลของผู้บริโภคในการเลือกซื้อน้ำผลไม้ และเพื่อให้แน่ใจว่ามีวิตามินซีในน้ำผลไม้จริง

1.4.2 ได้ข้อมูลสำหรับผู้ผลิตในการเลือกใช้ภาชนะที่เหมาะสมในการบรรจุน้ำผลไม้เพื่อป้องกันการสูญสลายของวิตามิน

1.4.3 ได้วิธีวิเคราะห์วิตามินซีที่มีความถูกต้องและมีประสิทธิภาพ

1.5 ระยะเวลาดำเนินการ

1 ปี (มกราคม - ธันวาคม 2542)

2. วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ และวิธีดำเนินการ

2.1. ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทดลอง

2.1.1 การศึกษาความเที่ยงและถูกต้องของวิธีวิเคราะห์วิตามินซีในน้ำผลไม้ ตัวอย่างที่ใช้ทดลอง คือ น้ำส้ม 100 % (ที่ซื้อจากร้านค้าในกรุงเทพหมานคร) จำนวน 7 ซ้ำ

2.1.2 การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณวิตามินซีในน้ำผลไม้ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วัน ใช้ตัวอย่างน้ำส้ม 100% (ที่ซื้อจากร้านค้าในกรุงเทพมหานคร)

2.2. เครื่องมือและอุปกรณ์

2.2.1 เครื่องชั่งไฟฟ้า ชั่งได้ละเอียด 0.0001 กรัม และ 0.01 กรัม

2.2.2 UV-VIS Spectrophotometer (JASCO) ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร พร้อม cuvette cell ชนิดควอทซ์เซล ขนาด 10 มิลลิลิตร และความกว้างแสงผ่าน 10 มิลลิเมตร

2.2.3 pH meter

2.2.4 ปิเปตต์ขนาดต่างๆ

2.2.5 ขวดแก้วปริมาตร ขนาด 25 50 และ 100 มิลลิลิตร

2.2.6 บีกเกอร์ ขนาด 10 50 100 และ 600 มิลลิลิตร

2.2.7 กระบอกตวง ขนาด 100 มิลลิลิตร

2.2.8 ขวดชมพู่ ขนาด 25 มิลลิลิตร

2.2.9 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2

2.2.10 ขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา ปิดฝาจีบ

2.3. สารเคมีและวิธีการเตรียม (สารเคมีทุกชนิดชั้นคุณภาพวิเคราะห์)

2.3.1 กรดเมตาฟอสฟอริก (ชนิดแท่ง)

2.3.2 ไดโซเดียมไฮโรเจนฟอสเฟตแอนไฮดรัส

2.3.3 กรดซิตริกแอนไฮดรัส

2.3.4 2,6 ไดไฮโดรคลอโรฟีนอลลินโดฟีนอล

2.3.5 สารมาตรฐานวิตามินซี (กรดแอสคอร์บิก) ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 99.0%

2.3.6 สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 6%

ชั่งกรดเมตาฟอสฟอริก (ข้อ 2.3.1) 60 กรัม ในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

2.3.7 สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 3%

เจือจางสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก (ข้อ 2.3.6) ด้วยน้ำกลั่น (1+1) เตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้

2.3.8 สารละลายซิเตรทบัฟเฟอร์ (citrate buffer solution, pH 4.5)

ชั่งโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตแอนไฮดรัส 142 กรัม และกรดซิตริก 126 กรัม ในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร ละลายน้ำประมาณ 400 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้ได้ 4.5 โดยใช้ pH meter ถ่ายใส่ขวดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร เตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้

2.3.9 สารละลาย 2,6 ไดคลอโรฟีนอลลินโดฟีนอล ความเข้มข้น 0.9 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ชั่ง 2,6 ไดคลอโรฟีนอลลินโดฟีนอล (ข้อ 2.3.4) 0.0900 กรัม ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำร้อนประมาณ 50 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายลงขวดแก้วปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2 ใส่ขวดสีชา เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส ใช้ได้ไม่เกิน 1 เดือน

2.3.10 สารละลาย 2,6 ไดคลอโรฟีนอลลินโดฟีนอล ความเข้มข้น 0.027 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ปิเปตต์สารละลาย ข้อ 2.3.9 จำนวน 3 มิลลิลิตร ใส่ขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

2.3.11 สารละลายมาตรฐานวิตามินซี ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ชั่งสารมาตรฐานวิตามินซี (ข้อ 2.3.5) 0.1000 กรัม ในบีกเกอร์ขนาด 10 มิลลิลิตร ละลายด้วยสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 6% (ข้อ 2.3.6) ถ่ายใส่ขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกจนถึงขีดปริมาตร

2.3.12 สารละลายมาตรฐานวิตามินซี ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ปิเปตต์สารละลายมาตรฐาน ข้อ 2.3.11 จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 3% (ข้อ 2.3.7) จนถึงขีดปริมาตร

2.3.13 สารละลายมาตรฐานวิตามินซี ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ปิเปตต์สารละลายมาตรฐาน ข้อ 2.3.12 จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 3% (ข้อ 2.3.7) จนถึงขีดปริมาตร

2.4. การดำเนินงาน

2.4.1 การเตรียมตัวอย่าง จะต้องทำอย่างรวดเร็วและในที่มืด เพื่อป้องกันการสลายของวิตามินซี

2.4.1.1 นำตัวอย่างน้ำส้ม 100% ที่บรรจุในกล่องลามิเนต ซื้อจากร้านค้าในเขตกรุงเทพมหานคร สำหรับใช้ในการศึกษาความแม่นยำและถูกต้องของวิธีวิเคราะห์วิตามินซีในน้ำผลไม้ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์วิตามินซี ด้วยวิธี spectrophotometric

2.4.1.2 ซื้อน้ำส้มคั้นสด 100% จากตลาดในเขตกรุงเทพมหานคร จำนวน 10 ลิตร เติมสารมาตรฐานวิตามินซี (ข้อ 2.3.5) จำนวน 2.5 กรัม ผสมให้เข้ากัน ทำการพาสเจอร์ไรส์โดยการนำไปต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วแบ่งบรรจุ (ขณะร้อน) ใส่ขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่ได้ผ่านการต้มด้วยน้ำร้อน ขวดละปริมาณ 150 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดให้สนิท แบ่งเก็บตัวอย่างขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง) อย่างละ 32 ขวด

2.4.2 การสกัดตัวอย่าง

2.4.2.1 เขย่าตัวอย่างให้เข้ากัน ชั่งตัวอย่างประมาณ 10 กรัม ให้ได้น้ำหนักแน่นอนใส่ในบีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร

2.4.2.2 เติมสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 6% (ข้อ 2.3.6) ปริมาณ 30 มิลลิลิตร

2.4.2.3 คนให้เข้ากัน ถ่ายใส่ขวดแก้วปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 6% (ข้อ 2.3.6) จนถึงขีดปริมาตร

2.4.2.4 เขย่าให้เข้ากัน กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 2

2.4.2.5 เก็บในขวดเก็บสารละลายตัวอย่าง

2.4.3 การวิเคราะห์วิตามินซีในตัวอย่าง

2.4.3.1 ปิเปตต์สารละลายตัวอย่าง (ข้อ 2.4.2.5) สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 3% (ข้อ 2.3.7) สารละลายซิเตรทบัฟเฟอร์ (ข้อ 2.3.8) ใส่ขวดชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร ตามอัตราส่วนดังนี้

สารละลายตัวอย่าง	V	มิลลิลิตร
สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 3%	3-V	มิลลิลิตร
สารละลายซิเตรทบัฟเฟอร์	4	มิลลิลิตร

2.4.3.2 เขย่าให้เข้ากัน

2.4.3.3 เติมสารละลายเจือจาง 2,6 ไดคลอโรฟีนอลลินโดฟีนอล ความเข้มข้น 0.027 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ข้อ 2.3.10) ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสง (A) โดยใช้เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ใช้ควอทซ์เซลขนาด 10 มิลลิลิตร และช่องแสง 10 มิลลิเมตร ทั้งนี้จะต้องทำให้เสร็จภายใน 10 วินาทีภายหลังจากเติมสารละลายเจือจางข้อ 2.3.10

2.4.3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแบลงค์ของสารละลายตัวอย่าง โดยปิเปตต์สารละลายตัวอย่างตามข้อ 2.4.3.1 แล้วเติมสารละลายมาตรฐานวิตามินซี ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ข้อ 2.3.11) จำนวน 0.5 มิลลิลิตร

2.4.3.5 เติมสารละลายเจือจาง 2,6 ไดคลอโรฟีนอลลินโดฟีนอล ความเข้มข้น 0.027 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ข้อ 2.3.10) เขย่าให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสง (B) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

2.4.3.6 คำนวณค่าการดูดกลืนแสงที่แท้จริง (A corrected) ดังนี้

$$A \text{ corrected} = (A - B)$$

2.4.4 วิธีการเตรียมกราฟมาตรฐาน

2.4.4.1 ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานวิตามินซี ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ข้อ 2.3.13) ใส่ในขวดชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร 6 ใบ จำนวน 0.0 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ปริมาณวิตามินซี 0 5 10 15 20 และ 25 ไมโครกรัม)

2.4.4.2 เติมสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 6% (ข้อ 2.3.6) สารละลายซิเตรทบัฟเฟอร์ (ข้อ 2.3.8) ดังนี้

สารละลายมาตรฐานวิตามินซี	V	มิลลิลิตร
สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 3 %	3-V	มิลลิลิตร
สารละลายซิเตรทบัฟเฟอร์	4	มิลลิลิตร

2.4.4.3 ดำเนินการตามข้อ 2.4.3.2 – 2.4.3.3 แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง (A)

2.4.4.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแบลงค์ของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี โดยปิเปตต์สารละลายมาตรฐานวิตามินซี ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ใส่ในขวดชมพู่ ขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 2.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรด

เมตาฟอสฟอริก 3% จำนวน 0.5 มิลลิลิตร สารละลายซิเตรทบัฟเฟอร์ จำนวน 4 มิลลิลิตร และสารละลายมาตรฐานวิตามินซี ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ข้อ 2.3.11) จำนวน 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2.4.4.5 เติมสารละลายเจือจาง 2,6 ไดคลอโรฟีนอลลินโดฟีนอล ความเข้มข้น 0.027 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ข้อ 2.3.10) ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสง (B) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

2.4.4.6 นำค่าการดูดกลืนแสงที่แท้จริง (A corrected) มาคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

$$A\ corrected = (A - B)$$

2.4.4.7 เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของวิตามินซี (แกน X) และ A corrected (แกน Y)

2.4.5 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณวิตามินซี (มิลลิกรัม/100 กรัม)} = \frac{X \cdot V1 \cdot 10 \cdot D \cdot 1}{V2 \quad W \quad 1000}$$

X = ปริมาณวิตามินซีที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน (ไมโครกรัม)

V_1 = ปริมาตรทั้งหมด (มิลลิลิตร)

V_2 = ปริมาตรที่ใช้ (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

D = อัตราการเจือจาง

2.5 ศึกษาความเที่ยงและความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์วิตามินซี ในน้ำส้ม 100 % โดยดำเนินการดังต่อไปนี้

2.5.1 เตรียมตัวอย่างน้ำส้ม 100 %

2.5.1.1 สุ่มตัวอย่างน้ำส้ม (ข้อ 2.1.2) ให้มีปริมาณ 2000 มิลลิลิตร แบบ random

2.5.1.2 ชั่งตัวอย่างน้ำส้ม 100% สำหรับเป็น original sample or control sample จำนวน 7 ซ้ำ

2.5.1.3 ชั่งตัวอย่างน้ำส้ม 100% จำนวน 7 ซ้ำ แล้วปิเปตต์สารละลายมาตรฐานวิตามินซี ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ข้อ 2.5.12) จำนวน 5 มิลลิลิตร ลงในแต่ละตัวอย่าง

2.5.2 วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในตัวอย่างน้ำส้ม 100 % และน้ำส้ม 100% ที่เติมสารมาตรฐานวิตามินซี ตามข้อ 2.4.3

2.5.3 คำนวณค่าความเที่ยง (precision หรือ repeatability) ของวิธี โดย

- นำผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำส้ม 100 % และน้ำส้ม 100% ที่เติมสารมาตรฐานวิตามินซี ในข้อ 2.5.2 แล้วคำนวณปริมาณวิตามินซี ตามข้อ 2.4.5
- คำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) ของข้อมูลผลการวิเคราะห์ทั้งหมด
- เกณฑ์ค่าความเที่ยง (7 ซ้ำ) จะต้องมีค่า % RSD (% Relative standard deviation) $\leq$ 10

$$\% \text{ RSD} = \frac{\text{SD}}{\text{Mean}} \times 100$$

เมื่อ RSD = เป็นค่าความเที่ยงของวิธี

SD = เป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Mean = เป็นค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นวิตามินซีที่ได้จากการทดลอง

2.5.4 คำนวณค่าความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์วิตามินซีในน้ำผลไม้ โดยคำนวณร้อยละของปริมาณคืนกลับของวิตามินซี (%recovery)

- เกณฑ์การยอมรับค่าความถูกต้อง จะต้องมีค่าร้อยละของปริมาณที่คืนกลับ (% recovery) อยู่ในช่วง 90 -110

$$\% \text{ Recovery} = \frac{([\text{ปริมาณของวิตามินซีใน spiked sample}] - [\text{ปริมาณของวิตามินซี ใน original sample}])}{\text{ปริมาณของวิตามินซี ใน spiked sample}} \times 100$$

2.6 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100 % ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา ใช้ตัวอย่างน้ำส้ม 100 % เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

2.6.1 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี

นำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100% ที่เก็บในขวดแก้วใส และขวดแก้วสีชาที่เก็บที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ในวันแรก วันที่ 3 , 5 , 10, 15, 20, 25 และ 30 วันของการเก็บ ตามข้อ 2.4.3.1

2.6.3 นำผลการวิเคราะห์มาคำนวณหาปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100% แล้วคำนวณร้อยละของปริมาณวิตามินซีที่ลดลง

2.6.4 นำผลที่คำนวณได้จากข้อ 2.6.3 มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันและร้อยละของปริมาณวิตามินซีที่ลดลงเมื่อเก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา ที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส

3. ผลการทดลอง

3.1 ศึกษาความเที่ยงและความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์วิตามินซี ในน้ำส้ม 100%

จากศึกษาทดลองหาค่าความเที่ยง (precision or repeatability) และความถูกต้อง (accuracy) ของการวิเคราะห์วิตามินซี ในน้ำส้ม 100% จำนวน 7 ซ้ำ พบว่า ค่า % Relative standard deviation (% RSD) เท่ากับ 2.89 (ตารางที่ 1) และค่าร้อยละของปริมาณที่คืนกลับได้ (% recovery) เท่ากับ 100.7

3.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100% ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

ผลการทดลองพบว่าปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100% ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน มีการลดลงร้อยละ 45.7 สำหรับขวดแก้วใส และ ร้อยละ 39.1 สำหรับขวดแก้วสีชา (ตารางที่ 2 และกราฟรูปที่ 1) นอกจากนี้พบว่าปริมาณวิตามินซีจะลดลงอย่างมากในช่วง 0-10 วันแรก คือ ร้อยละ 15.9 - 34.20 ในขวดแก้วใส และ ร้อยละ 9.0 - 28.8 ในขวดแก้วสีชา

ส่วนปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100% ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน นั้นพบว่ามีการลดลงร้อยละ 43.0 สำหรับขวดแก้วใส และร้อยละ 37.5 สำหรับขวดแก้วสีชา (ตารางที่ 3 และกราฟรูปที่ 2) และนอกจากนี้พบว่าปริมาณวิตามินซีจะลดลงอย่างมากในช่วง 0-10 วันแรก คือ ร้อยละ 13.6 – 33.2 ในขวดแก้วใส และร้อยละ 9.0-30.5 ในขวดแก้วสีชา

เมื่อนำร้อยละของวิตามินซีที่ลดลงเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส มาเปรียบเทียบกัน พบว่าร้อยละของวิตามินซีที่ลดลงของเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา เป็นเวลา 30 วัน เท่ากับร้อยละ 45.7 และ 39.1 ตามลำดับ ขณะที่ร้อยละของวิตามินซีที่ลดลงของเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา เป็นเวลา 30 วัน เท่ากับร้อยละ 43.0 และ 37.5 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

4. วิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาความเที่ยงและความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์วิตามินซี

ผลการศึกษาความเที่ยงและความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์วิตามินซีในน้ำส้ม100% อยู่ในเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าประสิทธิภาพของการวิเคราะห์วิตามินซีด้วย spectrophotometric method อยู่ในเกณฑ์ที่ดี และยังแสดงให้เห็นว่าสารละลายที่ใช้สกัดตัวอย่าง คือ สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 6% สามารถทำให้วิตามินซีมีความคงตัว ไม่สูญสลายระหว่างการวิเคราะห์ ดังที่แสดงด้วยค่า %recovery ที่เท่ากับ 100.7

4.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100 % ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา

ผลการเก็บตัวอย่างน้ำส้ม 100% ที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณวิตามินซีที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่เก็บไว้ทั้งสองอุณหภูมิมีแนวโน้มการลดลงของปริมาณวิตามินซี แต่ไม่สามารถคำนวณอัตราการลดลงอย่างแน่นอนได้ เนื่องจากปริมาณวิตามินซีจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 10 วันแรก และลดลงอย่างช้าๆ ในช่วงหลัง จึงควรศึกษาอัตราการลดลงของวิตามินซีในน้ำส้ม 100 % เพิ่มเติมในช่วงระยะเวลาดังกล่าว

นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณวิตามินซีที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่เก็บที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส เมื่อครบกำหนด 30 วัน พบว่า ปริมาณวิตามินซีที่เก็บในขวดแก้วใสจะลดลงมากกว่าที่เก็บในขวดแก้วสีชา เนื่องจากสมบัติของวิตามินซีที่สูญสลายเมื่อมีแสงและออกซิเจน ดังนั้นสีชาของขวดแก้วสีชาจะช่วยลดปริมาณแสงที่ผ่านขวดแก้วอันมีผลต่อการสูญสลายของวิตามินซี ทำให้ปริมาณวิตามินซีในขวดแก้วใสลดลงมากกว่าเมื่อเก็บในขวดแก้วสีชา

5. สรุปผลการทดลอง

5.1 การพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์วิตามินซี

ค่าความเที่ยง จากการทดสอบด้วยค่า %RSD ได้เท่ากับ 2.89 และ ค่าความถูกต้อง ด้วยร้อยละของปริมาณที่คืนกลับ (% recovery) เท่ากับ 100.7 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าวิธีดังกล่าวมีความเที่ยงและถูกต้องสามารถนำมาวิเคราะห์วิตามินซีได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณวิตามินซีที่บรรจุในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาโดยใช้ตัวอย่างน้ำส้ม 100 % เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100% ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน มีการลดลงร้อยละ 45.7 สำหรับขวดแก้วใส และร้อยละ 39.1 สำหรับขวดแก้วสีชา นอกจากนี้พบว่าปริมาณวิตามินซีจะลดลงอย่างมากในช่วง 0-10 วันแรก คือร้อยละ 15.9 – 34.2 ในขวดแก้วใส และร้อยละ 9.0 - 28.8 ในขวดแก้วสีชา ส่วนปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100% ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน นั้นพบว่ามีการลดลงร้อยละ 43.0 สำหรับขวดแก้วใส และร้อยละ 37.5 สำหรับขวดแก้วสีชา และพบว่าปริมาณวิตามินซีจะลดลงอย่างมากในช่วง 0-10 วันแรก คือร้อยละ 13.6 – 33.2 ในขวดแก้วใส และร้อยละ 9.0-30.5 ในขวดแก้วสีชา

เมื่อนำผลการทดลองที่ 30 วัน มาเปรียบเทียบร้อยละของวิตามินซีที่ลดลงที่บรรจุในขวดแก้วใส ที่เก็บที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส พบว่า ร้อยละของวิตามินซีที่ลดลงในขวดแก้วใส จะมากกว่าที่เก็บในขวดสีชา คือ ในขวดแก้วใสนั้นลดลง ร้อยละ 43.0-45.7 และร้อยละ 37.5 - 39.1 สำหรับขวดแก้วสีชา และเมื่อนำร้อยละของวิตามินซีที่ลดลงเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส มาเปรียบเทียบกัน พบว่าปริมาณการลดลงของวิตามินซีที่เก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสจะมากกว่าที่เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม 100 % ที่เก็บในขวดแก้วใสมีการลดลงของปริมาณวิตามินซีมากกว่าที่เก็บในขวดแก้วสีชา ไม่ว่าที่อุณหภูมิใด และลดลงอย่างมากในช่วง 10 วันแรก จึงไม่ควรเก็บน้ำส้มหรือน้ำผลไม้ไว้เกินกว่า 10 วัน และไม่ควรเก็บไว้ในที่อุณหภูมิสูงเกินกว่า 25 องศาเซลเซียส

6. กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ คุณสุจินต์ ศรีคงศรี ผู้อำนวยการกอง กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ และคุณสุนทรี เปรื่องการ หัวหน้ากลุ่มงานชีวเคมี ที่กรุณาให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ และขอขอบคุณทุกท่านในกลุ่มงานชีวเคมีที่มีส่วนร่วมในการช่วยให้ผลงานสำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

7. เอกสารอ้างอิง

1. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 182 (พ.ศ. 2541) เรื่อง ฉลากโภชนาการ
2. AOAC 1995 16th edition, section 45.1.4
3. AOAC 1995 16th edition, section 45.1.15
4. A.O'Brien and D. Roberton. Vitamin fortification of foods (specific application). In : The technology of vitamins in food. Edited by P. Ottaway. Blackie Academic & Professional, an imprint of Chapman & Hall. England 1993, p.114-117
5. Committee on Dietary Allowances, Food and Nutrition Board. Water-soluble vitamins. In : Recommended dietary allowances ninth edition. National Academy of Sciences. Wahsington, D.C. 1980,p.73-82
6. G.F.M.Ball. Chemical and biological nature. In : Water-soluble vitamin assays in human nutrition Champman & Hall. London, New York. 1994, P.79-89
7. I.D. Lumley. Vitamin analysis in foods. In : The technology of vitamins in food edited by P.B. Ottaway. Chapman & Hall. England. 1993,p.224-232
8. J. Florent. Vitamins. In : Biotechnology edited by H.-J.Rehm and G.Reed. Vol.4 : Microbiial products II vol. Ed. : H.Pape and H.-J.Rehm. Weinheim : Deerfield Beach, FL : VCH. 1986, p.115-158
9. Method of vitamin assay, 4th edition, 1984
10. S.S.Kadam and D.K.Salunkhe. Fruits in human nutrition. In : Handbook of fruit science and technology production, composition, storage and processing. Edited by D.K. Salunkhe and S.S. Kadam. Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, Hong Kong. 1995, p. 593-596
11. U.Moser and A.Bendich. Vitamin C. In Handbook of vitamins edited by L.J. Machlin 2nd ed. Marvel Deller, Inc. New York and Basel. 1991, p.195-232

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 1 แสดงผลการศึกษาหาค่าความเที่ยง (precision or repeatability) และค่าความถูกต้องในการวิเคราะห์วิตามินซี ในตัวอย่างน้ำส้ม 100 % จำนวน 7 ซ้ำ

ลำดับที่	ปริมาณวิตามินซี (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)			% Recovery
	ที่วัดได้จริง	ที่เติม	ที่คืนกลับได้	
1	10.00	5.00	5.00	100
2	10.36	5.00	5.36	107
3	10.00	5.00	5.00	100
4	9.75	5.00	4.75	95
5	10.50	5.00	5.50	110
6	9.75	5.00	4.75	95
7	9.90	5.00	4.90	98
Mean	10.037	Mean % recovery		100.7
SD	0.2900987			
% RSD	2.89			

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณวิตามินซีที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

ครั้งที่	จำนวนวัน	ปริมาณวิตามินซีในขวดสีขาว (มก/ 100 ก)					ปริมาณวิตามินซีในขวดสีน้ำตาล (มก/100 กป				
		A	B	เฉลี่ย	% วิตามินซีที่เหลือ	% วิตามินซีที่ลดลง	A	B	เฉลี่ย	% วิตามินซีที่เหลือ	% วิตามินซีที่ลดลง
		มก/100 มล		มก.100 มล			มก/100 มล		มก.100 มล		
1	0	18.3	18.4	18.4	100	0	18.3	18.5	18.4	100	0
2	3	15.6	15.3	15.5	84.1	15.9	16.6	16.8	16.7	91.0	9.0
3	5	13.9	13.9	13.9	75.5	24.5	14.9	14.9	14.9	81.0	19.0
4	10	12.1	12.1	12.5	65.8	34.2	12.8	13.3	13.1	71.2	28.8
5	15	11.2	11.1	11.2	60.8	39.2	13.4	12.1	12.8	69.5	30.5
6	20	10.9	10.9	10.9	59.2	40.8	12.8	11.6	12.2	66.3	33.7
7	25	10.2	10.4	10.3	56.0	44	11.6	11.6	11.6	63.0	37.0
8	30	10.0	10.0	10.0	54.3	45.7	11.2	11.2	11.2	60.9	39.1

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณวิตามินซีที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

ครั้งที่	จำนวนวัน	ปริมาณวิตามินซีในขวดสีขาว (มก/ 100 มล)					ปริมาณวิตามินซีในขวดสีน้ำตาล (มก/100 มล)				
		A	B	เฉลี่ย	% วิตามินซีที่เหลือ	% วิตามินซีที่ลดลง	A	B	เฉลี่ย	% วิตามินซีที่เหลือ	% วิตามินซีที่ลดลง
		มก/100 มล		มก./100 มล			มก/100 มล		มก./100 มล		
1	0	18.3	18.5	18.4	100	0	18.3	18.5	18.4	100	0
2	3	15.9	15.9	15.9	86.4	13.6	16.5	16.8	16.7	91.0	9.0
3	5	14.3	14.5	14.4	78.3	21.7	15.2	15.1	15.2	82.5	17.5
4	10	12.4	12.2	12.3	66.8	33.2	12.8	12.8	12.8	69.5	30.5
5	15	11.7	11.9	11.8	64.1	35.9	12.1	12.3	12.2	66.3	33.7
6	20	11.4	11.4	11.4	61.9	32.1	12.0	12.0	12.0	65.2	34.8
7	25	11.1	11.2	11.2	60.8	39.2	11.7	11.9	11.8	64.0	36.0
8	30	10.4	10.6	10.5	57.0	43.0	11.6	11.4	11.5	62.5	37.5

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณวิตามินซีที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

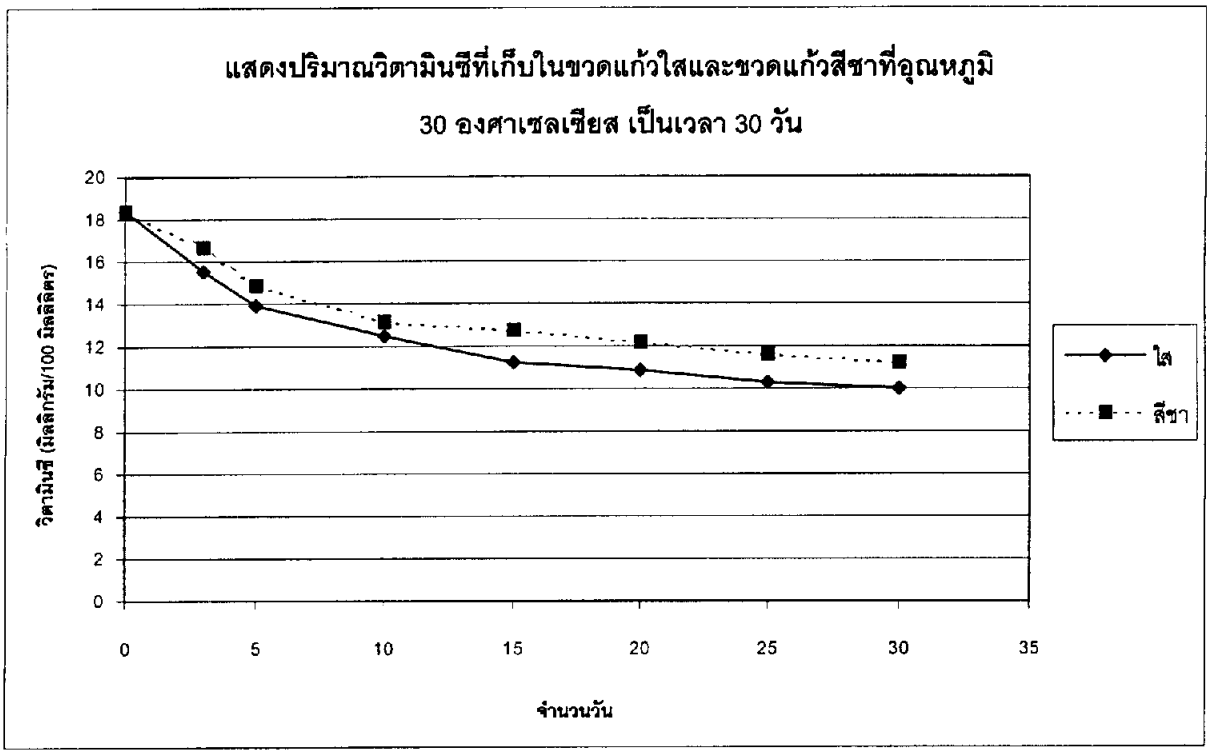
ครั้งที่	จำนวนวัน	ปริมาณวิตามินซีในขวดสีขาว (มก/ 100 มล)					ปริมาณวิตามินซีในขวดสีน้ำตาล (มก/100 มล)				
		A	B	เฉลี่ย	% วิตามินซีที่เหลือ	% วิตามินซีที่ลดลง	A	B	เฉลี่ย	% วิตามินซีที่เหลือ	% วิตามินซีที่ลดลง
		มก/100 มล		มก./100 มล			มก/100 มล		มก./100 มล		
1	0	18.3	18.5	18.4	100	0	18.3	18.5	18.4	100	0
2	3	15.9	15.9	15.9	86.4	13.6	16.5	16.8	16.7	91.0	9.0
3	5	14.3	14.5	14.4	78.3	21.7	15.2	15.1	15.2	82.5	17.5
4	10	12.4	12.2	12.3	66.8	33.2	12.8	12.8	12.8	69.5	30.5
5	15	11.7	11.9	11.8	64.1	35.9	12.1	12.3	12.2	66.3	33.7
6	20	11.4	11.4	11.4	61.9	32.1	12.0	12.0	12.0	65.2	34.8
7	25	11.1	11.2	11.2	60.8	39.2	11.7	11.9	11.8	64.0	36.0
8	30	10.4	10.6	10.5	57.0	43.0	11.6	11.4	11.5	62.5	37.5

ตารางที่ 4 ผลการเปรียบเทียบปริมาณวิตามินซีที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา ที่อุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

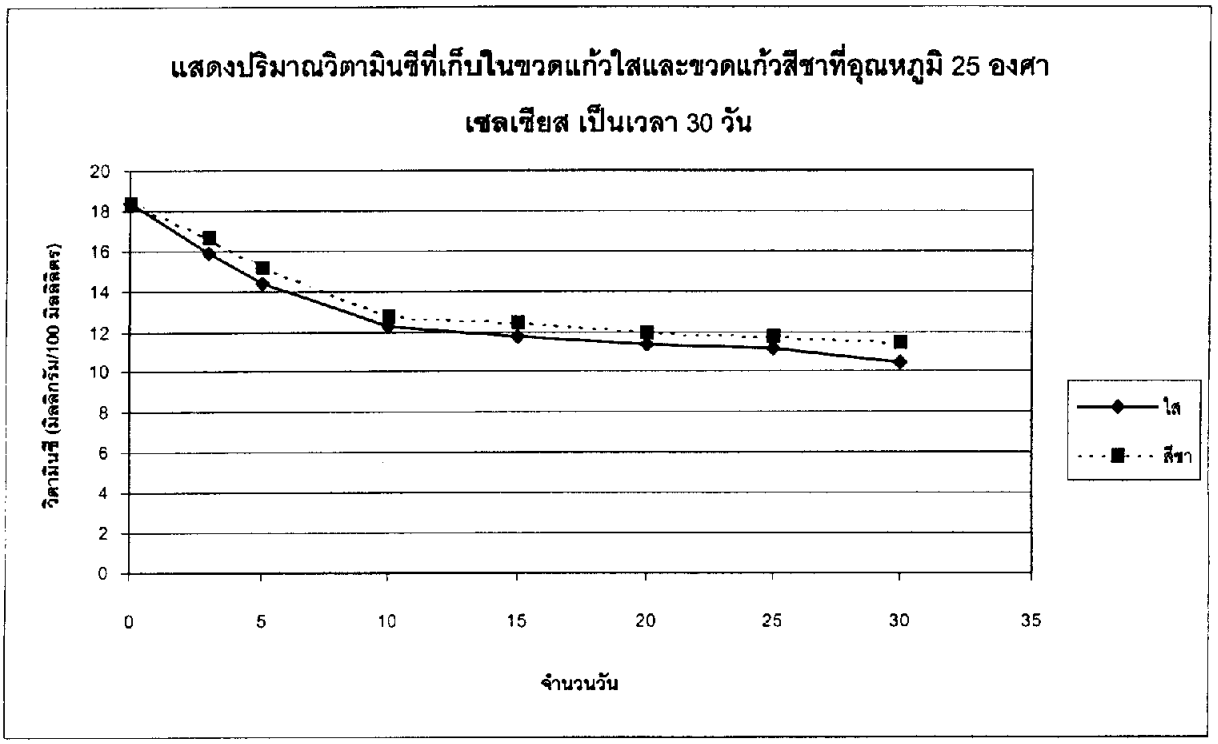
ครั้งที่	จำนวนวัน	ร้อยละของวิตามินซีที่ลดลงเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส		ร้อยละของวิตามินซีที่ลดลงเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	
		ในขวดแก้วใส	ในขวดแก้วสีชา	ในขวดแก้วใส	ในขวดแก้วสีชา
1	0	0	0	0	0
2	3	15.9	9.0	13.6	9.0
3	5	24.5	19.0	21.7	17.5
4	10	34.2	28.8	33.2	30.5
5	15	39.2	30.5	35.4	33.7
6	20	40.8	33.7	38.7	34.8
7	25	44.0	37.0	39.2	36.0
8	30	45.7	39.1	43.0	37.5

ภาคผนวก ข

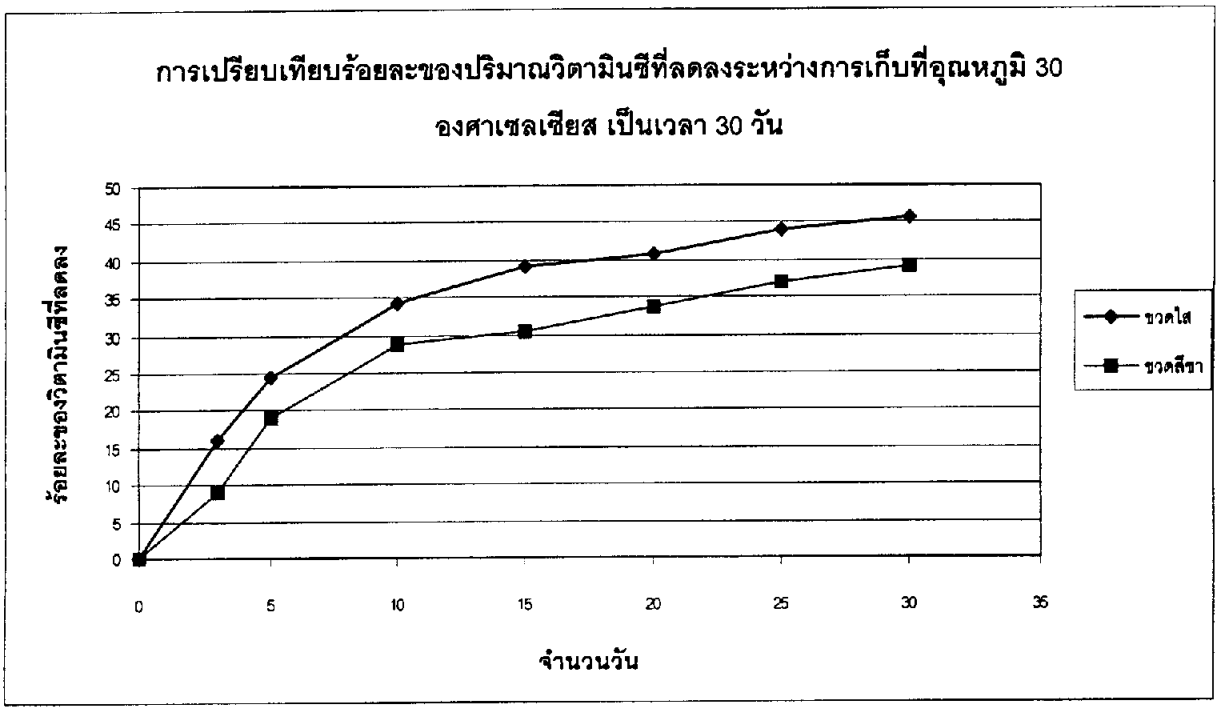
กราฟรูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินซีในน้ำส้ม 100 % ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา เก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน



<u>กราฟรูปที่ 2</u> แสดงความสัมพันธ์ระหว่างวิตามินซีในน้ำส้ม 100% ที่เก็บในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาเก็บที่อุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน



กราฟรูปที่ 3 แสดงผลเปรียบเทียบร้อยละของวิตามินซีที่ลดลงในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน



<u>กราฟรูปที่ 4</u> แสดงผลเปรียบเทียบร้อยละของวิตามินซีที่ลดลงในขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน