



โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การพัฒนาแผ่นตรวจวัดพีเอชด้วยเซลลูโลสและแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน
Development of a colorimetric pH sensing sheet using cellulose
and anthocyanin from butterfly pea flower

ชื่อนิสิต นางสาวสิริวรรณ รุ่งเลิศสิทธิกุล

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2559

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การพัฒนาแผ่นตรวจวัดพีเอชด้วยเซลลูโลสและแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน

Development of a colorimetric pH sensing sheet using cellulose and anthocyanin from butterfly pea flower

โดย

นางสาวสิรารวรรณ รุ่งเลิศสิทธิกุล

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

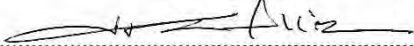
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

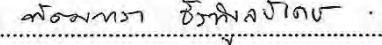
ปีการศึกษา 2559

โครงการ การพัฒนาแผ่นตรวจวัดพีเอชด้วยเซลล์ลูโลสและแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน
โดย นางสาวสิรารวรรณ รุ่งเลิศสิทธิกุล

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ


..... ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.มงคล สุขวัฒนาสินธุ์)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัมทรา อีร์พิบูลย์เดช)


..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.มนพิชา ศรีสะอาด)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)
วันที่ เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2560

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

ชื่อโครงการ การพัฒนาแผ่นตรวจวัดพีเอชด้วยเซลลูโลสและแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน
ชื่อนิติในโครงการ นางสาวสิรารวรรณ รุ่งเลิศสิทธิกุล เลขประจำตัว 5633154423
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัฒนรา ธีรพิบูลย์เดช
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2559

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาความคงตัวของสีแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน (BPA_n) และพัฒนาแผ่นตรวจวัดพีเอชจากแบคทีเรียเซลลูโลส (BC) ที่มี BPA_n สารสกัด BPA_n นี้จะถูกแยกส่วนด้วยการลงคอลัมน์ Diaion HP20 และชะด้วยเมทานอลจะได้สารสกัด BPA_n-M สารสกัดแอนโทไซยานินทั้งสองนี้จะให้สีในช่วงพีเอช 1-14 เหมือนกันแต่สารสกัด BPA_n-M มีความเข้มข้นของแอนโทไซยานินมากกว่า BPA_n ทั้งสารสกัด BPA_n และ BPA_n-M แสดงความเสถียรต่อแสงและความร้อนแตกต่างกัน นอกจากนี้ได้เตรียมแผ่นตรวจวัดพีเอช BC-Alg-BPA_n โดยแช่แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสในสารละลายแอลจินเตและสารละลาย BPA_n นำแผ่นตรวจวัดหลังจากทำให้แห้งแล้วไปศึกษาสมบัติทางเคมี-กายภาพด้วยเทคนิค FE-SEM และ FTIR แผ่นตรวจวัดพีเอชที่ใช้สารละลาย BPA_n ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 จะให้การเปลี่ยนแปลงของสีชัดเจนมากที่สุดเมื่อมองด้วยตาเปล่า

คำสำคัญ: อัญชัน, แอนโทไซยานิน, แบคทีเรียเซลลูโลส, แผ่นตรวจวัดพีเอช, แบคทีเรียเซลลูโลส, แอลจินเต

Project Title Development of a colorimetric pH sensing sheet using cellulose and anthocyanin from butterfly pea flower

Student Name Miss Sirawan Rungrerdsittikul Student ID 5633154423

Advisor Name Assistant Professor Pattara Thiraphibundet, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2016

Abstract

This work aimed to study color stability of anthocyanins extracted from butterfly pea (BPA_n) and to develop a smart pH sensing sheet based on bacterial cellulose (BC) nanofibers doped with BPA_n. The BPA_n was fractionated over a Diaion HP20 column and eluted with methanol to obtain BPA_n-M. Both anthocyanin extracts showed the same color shades in the range of pH1-14 but the BPA_n-M contained more anthocyanin content than BPA_n. Both BPA_n and BPA_n-M exhibited different stability toward light and temperature. Moreover, the pH sensing sheet, namely BC-Alg-BPA_n, was prepared by immersing a bacteria cellulose (BC) in the alginate and BPA_n solutions. After oven drying, BC-Alg-BPA_n was characterized its chemico-physical properties by FE-SEM and FTIR methods. The pH sensing sheet using 0.5% of BPA_n solution gave the clearest pH color changing by naked-eye detection.

Keywords: Butterfly Pea, Anthocyanins, pH Sensing Sheet, Bacterial Cellulose, Alginate

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยและรายงานฉบับนี้สำเร็จลุล่วงอย่างสมบูรณ์ ด้วยความกรุณาและการให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างสูงจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัฒนาร ธีรพิบูลย์เดช อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่คอยให้ความรู้ คำแนะนำ ให้การสนับสนุน ติดตามผลงานและให้กำลังใจช่วยเหลือเป็นอย่างดีตลอดการทำงานวิจัย อีกทั้งสละเวลาในการตรวจทานแก้ไขและช่วยเหลือในการทำรายงานฉบับนี้ให้สมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.มงคล สุขวัฒนาสินธุ์ และอาจารย์ ดร.มนพิชา ศรีสะอาด ที่ให้ความกรุณาสละเวลาในการตรวจทานแก้ไข พร้อมทั้งให้การแนะนำที่เกิดประโยชน์ในการปรับปรุงแก้ไข ข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้น และให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบวิจัย

ขอขอบคุณรุ่นพี่นิสิตปริญญาโทที่ให้ความรู้เกี่ยวกับเทคนิคการใช้เครื่องมือต่างๆ คอยให้คำแนะนำ คำปรึกษา และให้ความช่วยเหลือตลอดการทำงานวิจัย

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณต่อภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ที่ให้ความรู้ต่างๆ อันมีประโยชน์แก่ผู้วิจัย ตลอดเวลา 4 ปี ที่ผู้วิจัยได้ศึกษาอยู่ ซึ่งทำให้สามารถนำความรู้เหล่านั้นมาใช้กับงานวิจัย

ขอขอบพระคุณกำลังใจและความช่วยเหลือจากครอบครัว รวมถึงเพื่อนๆ ในภาควิชาเคมี ผู้วิจัยขอระลึกถึงความกรุณาของทุกท่านที่กล่าวมาข้างต้น และบุคคลที่ไม่ได้เอ่ยนามไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ท้ายนี้ผู้วิจัยคาดหวังว่าความรู้ที่ได้จากงานวิจัยฉบับนี้จะก่อให้เกิดประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจ และก่อให้เกิดแนวคิดในการพัฒนางานวิจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องต่อไป

สารบัญ

| | หน้า |
|--|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย | ค |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | ง |
| กิตติกรรมประกาศ | จ |
| สารบัญ | ฉ |
| สารบัญรูป | ช |
| สารบัญตาราง | ญ |
| สัญลักษณ์และคำย่อ | ฎ |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| 1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ | 1 |
| 1.2 ทฤษฎีและความรู้ที่เกี่ยวข้อง | 2 |
| 1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย | 11 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 11 |
| บทที่ 2 วิธีการทดลอง | 12 |
| 2.1 สารเคมีและเครื่องมือที่สำคัญ | 12 |
| 2.2 การสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน | 12 |
| 2.3 การแยกสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชันด้วยคอลัมน์ Diaion HP20 | 12 |
| 2.4 การตรวจสอบสีของสารสกัดแอนโทไซยานินก่อนและหลังผ่านคอลัมน์ Diaion HP20 พีเอช 1-14 | 12 |
| 2.5 ศึกษาความเสถียรต่อแสงและความร้อนของ BPA _n และ BPA _n -Me ในน้ำ | 13 |
| 2.6 ศึกษาการดูดซับสีแอนโทไซยานินบนแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลส | 13 |
| 2.7 ศึกษาความเข้มข้นของแอนโทไซยานินบนแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสแอลจินเนตต่อการเปลี่ยนสีที่ pH ต่างๆ | 14 |
| 2.8 ศึกษาลักษณะทางกายภาพและเคมีของแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลส | 14 |
| บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง | 15 |
| 3.1 การแยกสารสกัดจากดอกอัญชันด้วยการผ่านคอลัมน์ Diaion HP20 | 15 |
| 3.2 ตรวจวัดสีที่พีเอชต่างๆ ของสิ่งสกัดอัญชันก่อนและหลังผ่านคอลัมน์ Diaion HP20 | 16 |
| 3.3 ศึกษาความเสถียรของสารสกัดอัญชันต่อแสงและความร้อน | 19 |
| 3.4 ศึกษาการดูดซับสีแอนโทไซยานินจากอัญชันบนแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลส | 27 |

| | |
|---|----|
| 3.5 ศึกษาความเข้มข้นของแอนโทไซยานินบนแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสแอลจิเนตต่อการเปลี่ยนสีที่ pH ต่างๆ | 29 |
| 3.6 ศึกษาลักษณะทางกายภาพและเคมีของแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลส | 30 |
| บทที่ 4 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ | 34 |
| 4.1 สรุปผลการทดลอง | 34 |
| 4.2 ข้อเสนอแนะ | 34 |
| บรรณานุกรม | 35 |
| ประวัติผู้วิจัย | 39 |



สารบัญรูป

หน้า

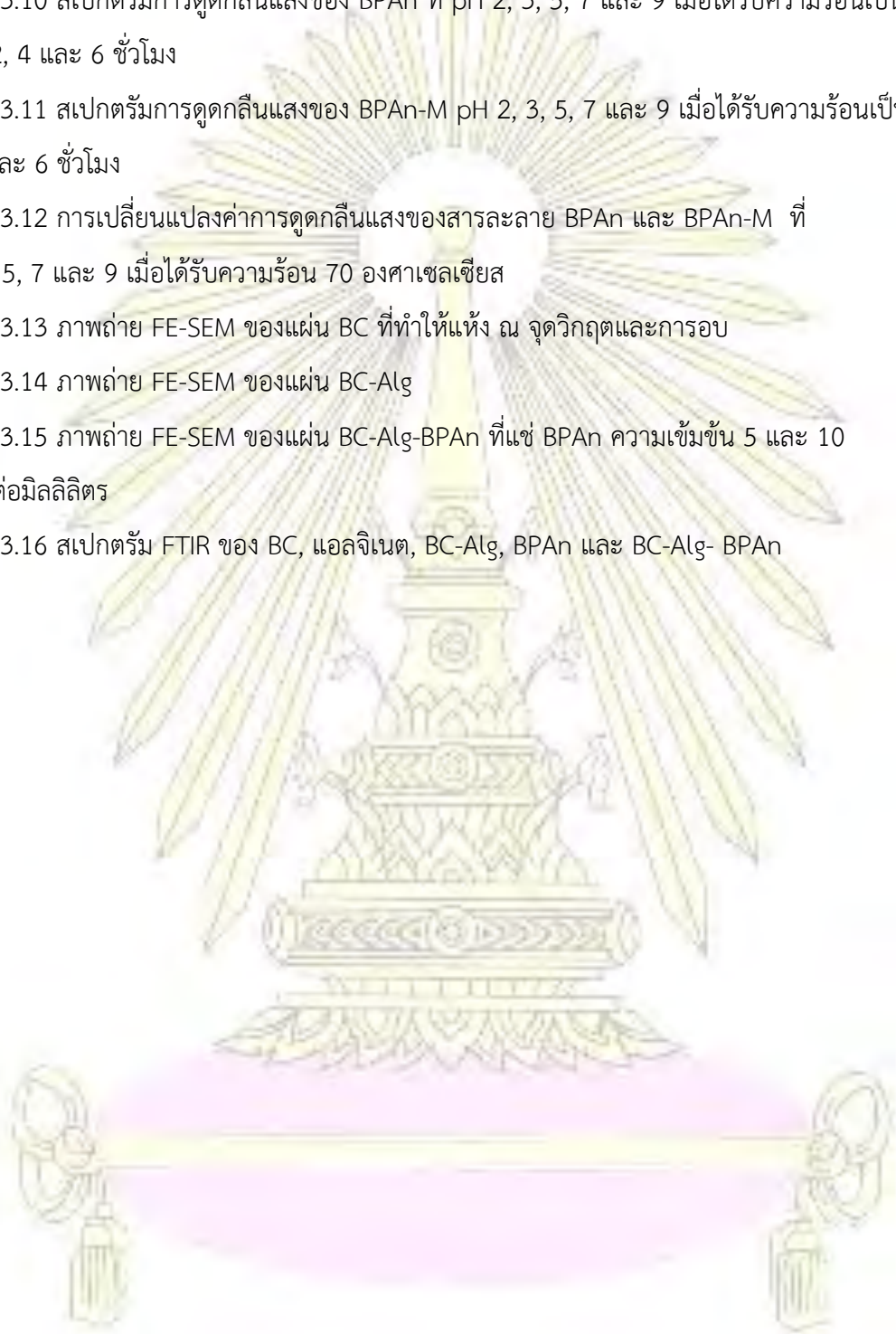
บทที่ 1 บทนำ

| | |
|---|----|
| รูปที่ 1.1 แสดงโครงสร้างของฟลาวิลียมไอออน (flavylum ion) | 2 |
| รูปที่ 1.2 แอนโทไซยานินที่พบมากในธรรมชาติ 6 ชนิด | 3 |
| รูปที่ 1.3 แอนโทไซยานินที่พบมากที่สุด | 3 |
| รูปที่ 1.4 ตำแหน่งในการแทนที่ flavylum ion ของไฮดรอกซิล เมทอกซิล และหมู่เอซิล | 4 |
| รูปที่ 1.5 โครงสร้างหลัก 4 โครงสร้าง ณ สมดุลของแอนโทไซยานินในสารละลาย | 5 |
| รูปที่ 1.6 การสลายตัวของแอนโทไซยานินเนื่องจากความร้อน | 6 |
| รูปที่ 1.7 การสลายตัวของแอนโทไซยานินเนื่องจากเอนไซม์ glycosidases | 6 |
| รูปที่ 1.8 การสลายตัวของแอนโทไซยานินด้วยปฏิกิริยา enzymatic browning | 7 |
| รูปที่ 1.9 แสดงตัวอย่างโครงสร้างของ ternatins ในอัญชัน | 7 |
| รูปที่ 1.10 แสดงการไฮเดรชันของ flavylum cation ทำให้เกิดสมดุลของ Carbinol pseudobase และ carbinol | 8 |
| รูปที่ 1.11 การเกิดพันธะไฮโดรเจนของแบคทีเรียเซลลูโลส | 9 |
| รูปที่ 1.12 รูปแบบและโครงร่างการเกิดสายโซ่ของแอลจินेट | 10 |

บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

| | |
|---|----|
| รูปที่ 3.1 สีของสารละลายที่ผ่านคอลัมน์ Diaion HP20 และชะด้วย น้ำ เมทานอล และ อะซิโตน | 15 |
| รูปที่ 3.2 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ BPA _n และ BPA _n -M ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร | 16 |
| รูปที่ 3.3 สีของสารสกัด BPA _n ในน้ำ BPA _n ในเมทานอล BPA _n -M ในน้ำ และ BPA _n -M ในเมทานอล ที่ pH 1-14 | 16 |
| รูปที่ 3.4 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ BPA _n ในน้ำ ที่ pH 1-14 และของ BPA _n -M ในน้ำ ที่ pH 1-14 | 18 |
| รูปที่ 3.5 สารละลาย BPA _n และ BPA _n -M เมื่อได้รับแสงธรรมชาติเป็นเวลา 0, 1, 3 และ 6 วัน | 19 |
| รูปที่ 3.6 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ BPA _n ที่ pH 2, 3, 5, 7 และ 9 เมื่อได้รับแสงธรรมชาติเป็นเวลา 0, 1, 3 และ 6 วัน | 20 |
| รูปที่ 3.7 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ BPA _n -M ที่ pH 2, 3, 5, 7 และ 9 เมื่อได้รับแสงธรรมชาติเป็นเวลา 0, 1, 3 และ 6 วัน | 21 |

| | |
|--|----|
| รูปที่ 3.8 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย BPA _n และ BPA _n -M ที่ pH 2, 3, 5, 7 และ 9 เมื่อได้รับแสงธรรมชาติ | 22 |
| รูปที่ 3.9 สารละลาย BPA _n และ BPA _n -M เมื่อได้รับความร้อนเป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง | 23 |
| รูปที่ 3.10 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ BPA _n ที่ pH 2, 3, 5, 7 และ 9 เมื่อได้รับความร้อนเป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง | 24 |
| รูปที่ 3.11 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ BPA _n -M pH 2, 3, 5, 7 และ 9 เมื่อได้รับความร้อนเป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง | 25 |
| รูปที่ 3.12 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย BPA _n และ BPA _n -M ที่ pH 2, 3, 5, 7 และ 9 เมื่อได้รับความร้อน 70 องศาเซลเซียส | 26 |
| รูปที่ 3.13 ภาพถ่าย FE-SEM ของแผ่น BC ที่ทำให้แห้ง ณ จุดวิกฤตและการอบ | 30 |
| รูปที่ 3.14 ภาพถ่าย FE-SEM ของแผ่น BC-Alg | 31 |
| รูปที่ 3.15 ภาพถ่าย FE-SEM ของแผ่น BC-Alg-BPA _n ที่แช่ BPA _n ความเข้มข้น 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร | 32 |
| รูปที่ 3.16 สเปกตรัม FTIR ของ BC, แอลจิเนต, BC-Alg, BPA _n และ BC-Alg- BPA _n | 33 |



สารบัญตาราง

| | หน้า |
|---|------|
| บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง | |
| ตารางที่ 3.1 สีของสารสกัด BPA _n และ BPA _n -M ในน้ำและเมทานอลที่ pH 1-14 | 17 |
| ตารางที่ 3.2 ความยาวคลื่นการดูดกลืนสูงสุดของสารสกัด BPA _n และ BPA _n -M ในน้ำที่ pH 1-14 | 17 |
| ตารางที่ 3.3 แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่มีสีแอนโทไซยานินและตรวจวัดสารละลายที่ pH ต่างๆ | 28 |
| ตารางที่ 3.4 แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่มีสีของแอนโทไซยานินที่ความเข้มข้นต่างๆ | 29 |



สัญลักษณ์และคำย่อ

| อักษรย่อ | ความหมาย |
|-------------|---|
| BC | แบคทีเรียเซลล์โลส |
| BC-Alg | แบคทีเรียเซลล์โลสที่มีแอลจินเต |
| BC-Alg-BPAn | แบคทีเรียเซลล์โลสที่มีแอลจินเตและสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน |
| BC-Hy | แบคทีเรียเซลล์โลสที่ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยกรด |
| BC-Sugar | แบคทีเรียเซลล์โลสที่มีน้ำตาล |
| BPAn | สารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน |
| BPAn-A | สารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชันที่ลงคอลัมน์ Diaion HP20 และชะด้วยอะซีโตน |
| BPAn-W | สารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชันที่ลงคอลัมน์ Diaion HP20 และชะด้วยน้ำกลั่น |
| BPAn-M | สารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชันที่ลงคอลัมน์ Diaion HP20 และชะด้วยเมทานอล |

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

บรรจุภัณฑ์อัจฉริยะ คือบรรจุภัณฑ์ที่มีตัวบ่งชี้ที่อยู่ภายในหรือภายนอก ซึ่งให้ข้อมูลเกี่ยวกับตัวผลิตภัณฑ์ คุณภาพ หรือบันทึกการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมภายนอกของผลิตภัณฑ์ [1] ซึ่งบรรจุภัณฑ์อัจฉริยะถูกนำมาใช้มากขึ้นในการตรวจสอบคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารและสินค้าก่อนถึงผู้บริโภค เทคโนโลยีบรรจุภัณฑ์จึงทำให้เกิดความหลากหลายในการออกแบบตัวตรวจวัดผลิตภัณฑ์ตามความเหมาะสมของการใช้งาน เช่น บรรจุภัณฑ์ที่บ่งบอกความสดใหม่ของอาหาร เชื้อโรค การรั่วไหล ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ ปริมาณออกซิเจน เวลา อุณหภูมิ และความเป็นกรด-เบส [2] ซึ่งตัวตรวจวัดเหล่านี้มักให้ข้อมูลเชิงคุณภาพผ่านทาง การเปลี่ยนแปลงสี [3]

แผ่นหรือวัสดุตรวจวัดความเป็นกรด-เบสที่สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่า ได้รับความสนใจและมีการพัฒนาขึ้นอย่างกว้างขวาง [4] โดยตัวตรวจวัดความเป็นกรด-เบสจะต้องมีลักษณะสำคัญ 2 ประการคือ มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-เบสและยึดเกาะบนวัสดุของแข็งได้ดี [5] ผลงานวิจัยใช้สารสกัดจากพืชและผลไม้เป็นตัวตรวจวัดความเป็นกรด-เบส โดยหนึ่งในรงควัตถุที่มีการนำมาใช้มากคือแอนโทไซยานิน แอนโทไซยานินเป็นสารกลุ่มใหญ่ในธรรมชาติ ที่ละลายน้ำ สก๊ตง่าย และไม่อันตราย ให้สีแดง น้ำเงิน ม่วง พบมากในผลไม้ ผัก และธัญพืช [6] ซึ่งสีของแอนโทไซยานินสามารถเปลี่ยนแปลงได้ ขึ้นกับความความเป็นกรด-เบส อุณหภูมิ แสง ตัวทำละลาย เอนไซม์ โปรตีน และไอออนของโลหะ [7] โดยแอนโทไซยานินมีโครงสร้างเป็นสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก เมื่ออยู่ในสภาวะความเป็นกรด-เบสที่ต่างกัน จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง ทำให้ปรากฏสีที่ต่างกัน [8]

เพื่อความสะดวกในการใช้งาน ตัวตรวจวัดความเป็นกรด-เบส จากสารสกัดจากพืชจะต้องยึดเกาะบนวัสดุของแข็ง ซึ่งวัสดุยึดเกาะต้องไม่ต้านการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-เบส และไม่สลายตัวง่าย มีงานวิจัยหลายฉบับได้พัฒนาตัวตรวจวัดพีเอชโดยใช้วัสดุธรรมชาติ และใช้เทคนิคการเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานิน เพื่อบ่งชี้ระดับความเป็นกรดเบส เช่น งานวิจัยพัฒนาฟิล์มตรวจวัดพีเอชที่ย่อยสลายได้จากแป้งมันสำปะหลัง และสารสกัดองุ่นและผักขม [9] งานวิจัยพัฒนาฟิล์มตรวจวัดพีเอชจากไคโตซานและสารสกัดแอนโทไซยานินจากองุ่น [6] งานวิจัยพัฒนาแผ่นตรวจวัดพีเอชจากแบคทีเรียเซลลูโลสและสารสกัดจากกะหล่ำปลีม่วง [8] เป็นต้น

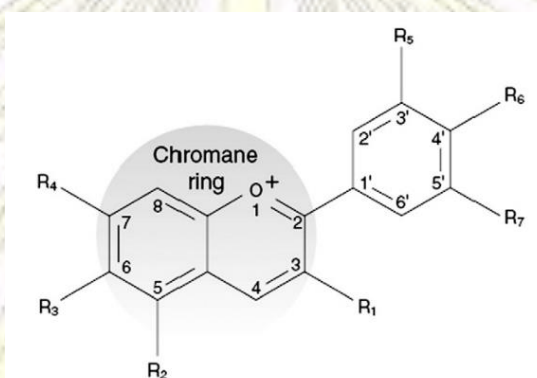
งานวิจัยนี้มีความสนใจในการพัฒนาแผ่นตรวจวัดที่สามารถบ่งบอกระดับความเป็นกรดและเบส โดยเตรียมแผ่นตรวจวัดพีเอชจากเซลลูโลสแอลจิเนตและสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน แบคทีเรียเซลลูโลสหรือวุ้นมะพร้าว มีโครงสร้างภายในเป็นเส้นใยเซลลูโลสที่บริสุทธิ์สูง เชื่อมต่อกันเป็นโครงร่างที่มีรูพรุน

มีน้ำเป็นองค์ประกอบมากกว่า 97 เปอร์เซ็นต์ [10] และสามารถดูดซับแอนโทไซยานินได้ แต่ยังไม่เคยมีรายงานในการใช้เป็นแผ่นตรวจวัดความเป็นกรดและเบสจากสีจากดอกอัญชันมาก่อน

1.2 ทฤษฎีและความรู้ที่เกี่ยวข้อง

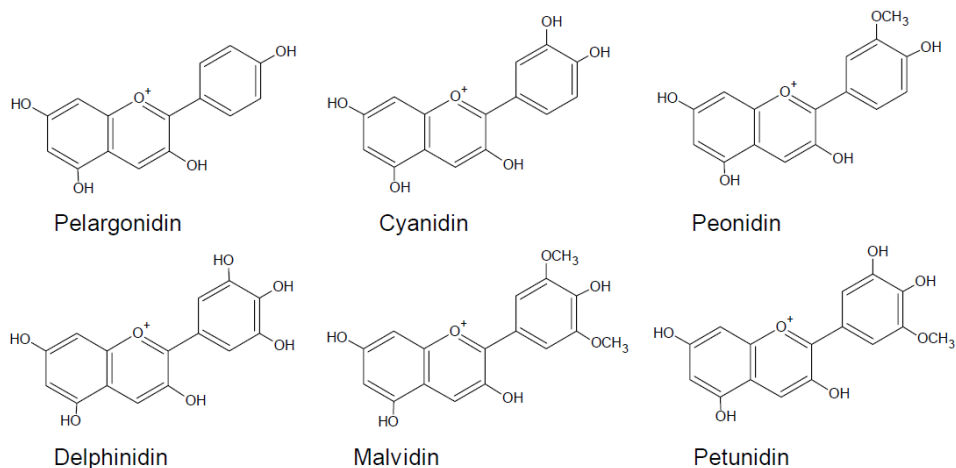
1.2.1 แอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) พบได้ในแควควิลอยและเซลล์เนื้อเยื่อชั้นนอกของดอก ผล และใบของพืชดอก ซึ่งปัจจุบันมีการค้นพบมากกว่า 300 ชนิด แต่ทุกชนิดมีลักษณะโครงสร้างหลักคือ แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) น้ำตาล และหมู่เอซิล โดยแอนโทไซยานิดินประกอบด้วยคาร์บอน 15 ตัว (C6-C3-C6) เรียกว่าอะไกลโคโคน (aglycone) ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ (glycoside) ของ 2-ฟีนิลเบนโซไพริเลียม (2-phenylbenzopyrylium) หรือเกลือของฟลาวิเลียม (flavylium salt) [11] ดังรูปที่ 1.1



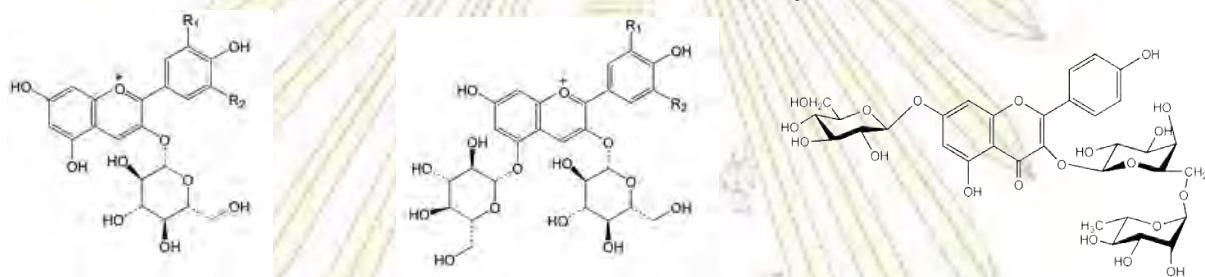
รูปที่ 1.1 แสดงโครงสร้างของฟลาวิเลียมไอออน (flavylium ion) [12]

แอนโทไซยานิดินมีมากกว่า 20 ชนิด แต่มีอยู่ 6 ชนิดที่พบได้บ่อยในพืชคือ pelargonidin, cyaniding, delphinidin, peonidin, petunidin และ malvidin ดังรูปที่ 1.2 แอนโทไซยานินในสภาวะกรดสามารถดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นระหว่าง 465 ถึง 550 นาโนเมตร และสามารถดูดกลืนยูวีที่ความยาวคลื่น 270 และ 280 นาโนเมตร โดยแอนโทไซยานินแต่ละชนิดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับจำนวนการเกิดไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation) การเกิดเมทิลเลชัน (methylation) การเกิดไกลโคซิเลชัน (glycosylation) และการเกิดอะคิลเลชัน (acylation) ของอะลิฟาติก เช่น malonyl, acetyl และอะโรมาติก เช่น coumaroyl, caffeoyl ที่วงอะโรมาติก B ทำให้เกิด bathochromic shift และ hypsochromic shift ส่งผลให้แอนโทไซยานินแต่ละชนิดมีการดูดกลืนพลังงานที่ความยาวคลื่นต่างกันและปรากฏสีที่แตกต่างกัน [13]



รูปที่ 1.2 แอนโทไซยานิดินที่พบมากในธรรมชาติ 6 ชนิด [14]

และน้ำตาลที่ต่อกับแอนโทไซยานิดิน ได้แก่ กลูโคส กาแลคโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) อะราบินโนส (arabinose) ไคแซ็กคาไรด์ และไตรแซ็กคาไรด์ โดยแอนโทไซยานินที่พบมากที่สุด คือ 3-monoside, 3-biosides, 3,5-diglycosides และ 3,7- diglycosides (รูปที่ 1.3) [12]



3-monoside anthocyanins 3,5- diglycosides anthocyanins 3,7- diglycosides anthocyanins

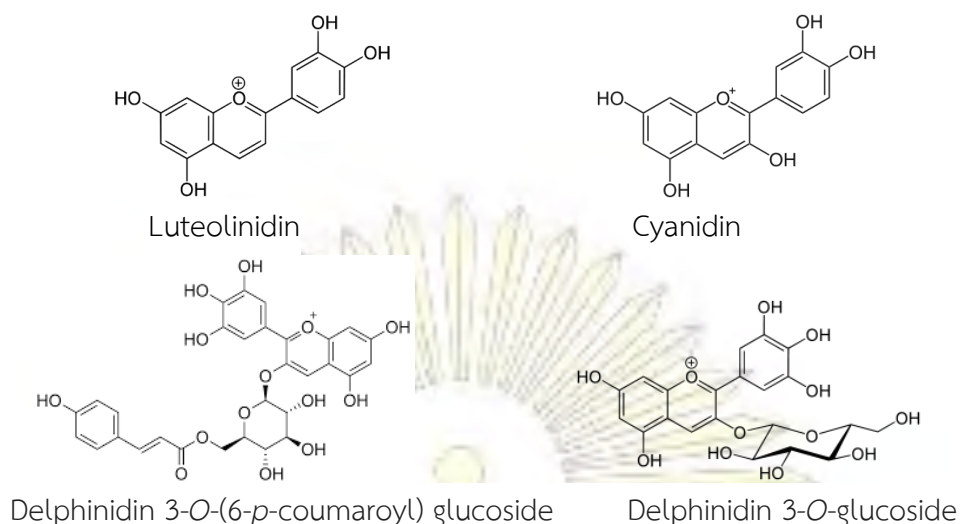
รูปที่ 1.3 แอนโทไซยานินที่พบมากที่สุด ได้แก่ 3-monoside anthocyanin, 3,5-diglycosides anthocyanin และ 3,7- diglycosides anthocyanin

1.2.2 ปัจจัยที่ส่งผลต่อความเสถียรของแอนโทไซยานิน

1. โครงสร้าง

ความเสถียรและสีของแอนโทไซยานินขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง อาทิเช่น

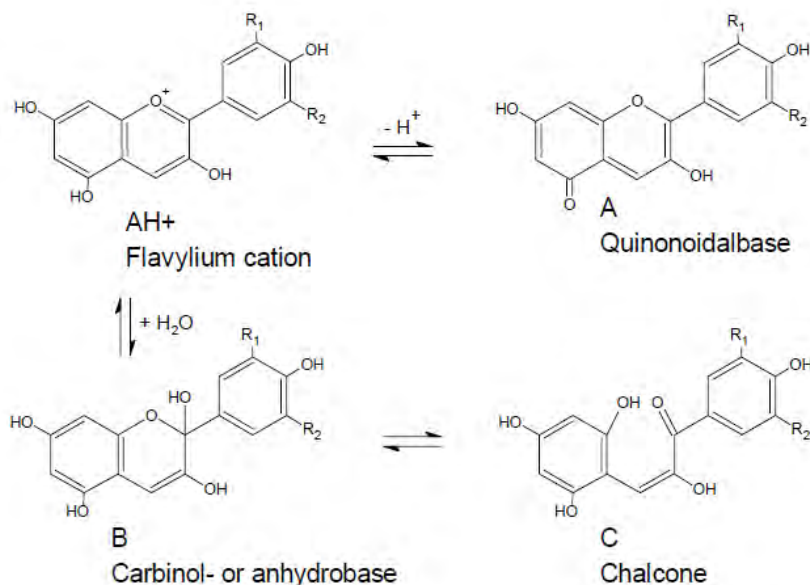
- จำนวนและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิลในการแทนที่ flavylium ion เช่น 3-deoxy anthocyanins (Luteolinidin) มีความเสถียรมากกว่า 3-hydroxy anthocyanins (Cyanidin)
- จำนวนหน่วยน้ำตาลที่ต่ออยู่ใกล้กับ flavylium ion
- จำนวนของกรดที่เชื่อมต่อกับส่วนของไกลโคซิล (glycosylic moiety) ที่เป็นหมู่เอซิล โดยแอนโทไซยานินที่ประกอบด้วย aromatic acyl groups มีความเสถียรมากกว่า แอนโทไซยานินที่ไม่มี acyl group เช่น Delphinidin 3-O-(6-p-coumaroyl) glucoside มีความเสถียรมากกว่า Delphinidin 3-O-glucoside



รูปที่ 1.4 ตำแหน่งในการแทนที่ flavylum ion ของไฮดรอกซิล เมทอกซิล และหมู่เอซิด

2. พีเอช

แอนโทไซยานินมีความเสถียรในสารละลายที่มีพีเอชต่ำมากกว่าในสารละลายที่มีพีเอชสูง ซึ่งระดับความเป็นกรด-เบสจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของอะไกลโคนภายในแอนโทไซยานิน ซึ่งสามารถเกิดได้ 4 โครงสร้าง ได้แก่ red flavylum cation (AH^+), blue quinonoidal base หรือ red quinonoidal base (A), colorless carbinol pseudobase (B) และ colorless chalcone (C) สารละลายที่เป็นกรดและเป็นกลาง จะมีแอนโทไซยานินทั้ง 4 โครงสร้างอยู่ในสภาวะสมดุล ในสภาวะที่เป็นกรดและพีเอชต่ำกว่า 2 จะมี AH^+ เป็นโครงสร้างเด่น เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้น AH^+ จะเกิดการสูญเสียโปรตอนเกิดเป็นสารละลาย blue quinonoidal base หรือ red quinonoidal base (A) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่เกิดเป็นปกติ แต่การเกิดปฏิกิริยาไฮเดรชัน (hydration) ของ AH^+ ทำให้เกิด colorless carbinol pseudobase (B) ดังรูปที่ 1.3 ความแตกต่างกันของความเป็นกรด-เบส จึงส่งผลต่อโครงสร้างและสมดุลของแอนโทไซยานิน ซึ่งโครงสร้าง red flavylum cation เกิดการคอนจูเกตของพันธะคู่และดูดกลืนพลังงานในช่วงความยาวคลื่นแสง เมื่อเปลี่ยนโครงสร้างจะทำให้การคอนจูเกตของพันธะคู่เปลี่ยนแปลงไป ทำให้เกิด bathochromic shift และ hypsochromic shift ซึ่งเป็นผลให้มีการดูดกลืนพลังงานที่ความยาวคลื่นต่างกัน และเกิดสีที่แตกต่างกันตามระดับพีเอช [15]



รูปที่ 1.5 โครงสร้างหลัก 4 โครงสร้าง ณ สมดุลของแอนโทไซยานินในสารละลาย [15]

เนื่องจากพิษของผลต่อโครงสร้างของแอนโทไซยานิน จึงมีงานวิจัยหลากหลายที่นำคุณสมบัติด้านนี้มาพัฒนาแผ่นตรวจวัดกรด-เบส ตัวอย่าง เช่น

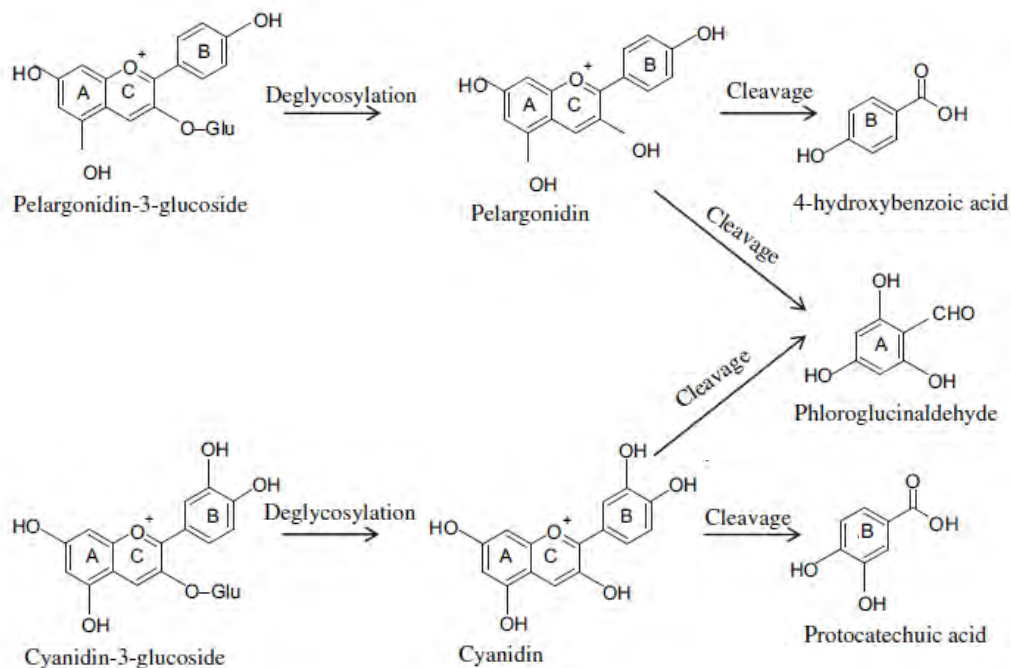
ในปี 2014 Yoshida และคณะ [6] ได้พัฒนาแผ่นตรวจวัดกรด-เบส ซึ่งเตรียมจากแผ่นฟิล์มไคโตซานและสารสกัดแอนโทไซยานินจากองุ่น พบว่าแผ่นฟิล์มและแอนโทไซยานินรวมเป็นเนื้อเดียวกัน มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น 47% การละลายน้ำและอัตราการซึมผ่านของไอน้ำลดลง แผ่นฟิล์มมีสีม่วงเข้มสามารถเปลี่ยนเป็นสีชมพูเมื่อจุ่มในสารละลายกรด เปลี่ยนเป็นสีเขียวเมื่อจุ่มในสารละลายที่เป็นกลาง และเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเมื่อจุ่มในสารละลายเบส

ในปี 2015 Pereira และคณะ [16] ได้พัฒนาแผ่นตรวจวัดกรด-เบส ซึ่งเตรียมจากแผ่นฟิล์มไคโตซาน/โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ และสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีม่วง พบว่าแผ่นฟิล์มมีความแข็งแรง 9.6 MPa ยืดหยุ่น สามารถเปลี่ยนสีได้เกือบทุก pH โดยมีสีแดงที่ pH 1 สีชมพูที่ pH 2, 3 สีม่วงที่ pH 4 ไม่มีสีที่ pH 5,6 สีฟ้าที่ pH 7 สีเขียวที่ pH 8 และสีเขียวเข้มขึ้นเมื่อ pH เพิ่มขึ้นจาก 9-12 นอกจากนี้แผ่นฟิล์มได้นำไปทดสอบการเปลี่ยนสีกับอาหารจริง เพื่อบ่งบอกคุณภาพและ pH ของอาหารที่เปลี่ยนแปลงไปหากเกิดการเน่าเสีย ซึ่งพบว่าแผ่นฟิล์มสามารถบ่งชี้ระดับ pH ได้จริง

3. อุณหภูมิ

เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นทำให้เกิดการสูญเสียส่วนของไกลโคซิลโดยเกิดปฏิกิริยา deglycosylation บริเวณพันธะไกลโคสิดิก ที่ตำแหน่งที่ 3 ทำให้แอนโทไซยานินสูญเสียน้ำตาล เปลี่ยนเป็นแอนโทไซยานิดิน และแอนโทไซยานิดินถูกทำลายโครงสร้างโดยทำให้เกิดการแตกของวงแหวนบริเวณ heterocyclic ring นำไปสู่การ

เปลี่ยนแปลงโครงสร้างและเปลี่ยนแปลงสี โดยจะเกิดการแตกเป็นโมเลกุลที่เล็กลง ทำให้การคอนจูเกตของพันธะคู่ลดลง การดูดกลืนแสงเปลี่ยนไปจากเดิม ซึ่งไม่อยู่ในความยาวคลื่นที่ตามองเห็น จึงปรากฏสีที่จางลง [17]



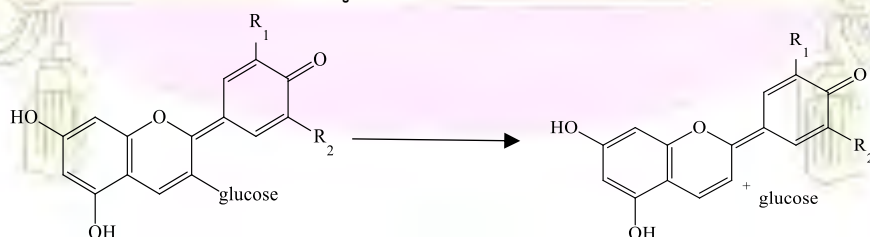
รูปที่ 1.6 การสลายตัวของแอนโทไซยานินเนื่องจากความร้อน [17]

4. แสง

แสงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในพืชและช่วยเร่งการอัตราการย่อยสลายของแอนโทไซยานิน โดยแสงจะมีบทบาทในการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ่น flavylium cation ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน [18]

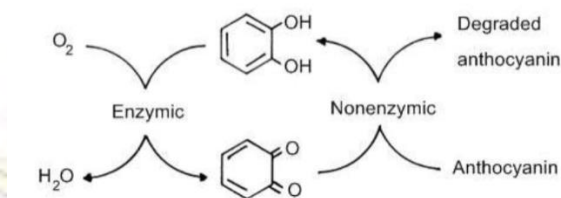
5. เอนไซม์

เอนไซม์ glycosidases พบมากและมีบทบาทในการทำลายแอนโทไซยานิน ซึ่งทำลายพันธะโควาเลนต์ระหว่าง glycosyl residual และอะไกลโคนของแอนโทไซยานิน ส่งผลให้โครงสร้างของแอนโทไซยานินสูญเสียหมู่น้ำตาล เปลี่ยนไปเป็นแอนโทไซยานิดิน ดังรูปที่ 1.5



รูปที่ 1.7 การสลายตัวของแอนโทไซยานินเนื่องจากเอนไซม์ glycosidases [18]

เอนไซม์ peroxidases และ phenolases พบได้ตามธรรมชาติในผลไม้จะมีผลต่อการสลายตัวของแอนโทไซยานินโดยการเกิดปฏิกิริยา enzymatic browning จะทำให้เกิดสารควิโนนซึ่งทำปฏิกิริยา non-enzymatic browning ส่งผลให้แอนโทไซยานินเกิดการสลายตัว ดังรูปที่ 1.6 [12]



รูปที่ 1.8 การสลายตัวของแอนโทไซยานินด้วยปฏิกิริยา enzymatic browning [12]

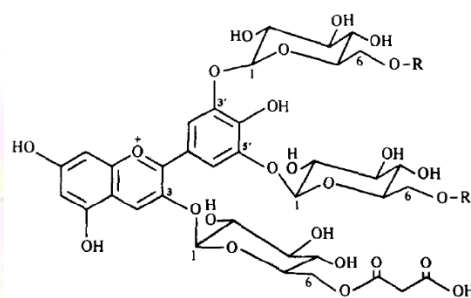
6. น้ำตาล

น้ำตาลมีส่วนในการเพิ่มความเสถียรของแอนโทไซยานินเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น โดยโมเลกุลน้ำตาลช่วยป้องกัน pyrylium ring ของแอนโทไซยานิน ไม่ให้โมเลกุลน้ำซึ่งเป็นนิวคลีโอไฟล์เข้ามาทำปฏิกิริยา ซึ่งช่วยลดการสลายตัวของแอนโทไซยานิน

ในปี 2016 Chu และคณะ พบว่าน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 20% ช่วยลดการสลายตัวของแอนโทไซยานินจากอัตราที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส [19]

1.2.3 อัญชัน (Butterfly pea)

อัญชัน (Butterfly pea) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Clitoria ternatea* L. เป็นไม้เลื้อยล้มลุกที่ให้สีน้ำเงินธรรมชาติ คนไทยนิยมนำมาใช้เป็นสีผสมอาหารและใช้ในเครื่องสำอาง รังควันทำให้สีในดอกอัญชันเป็นสารประเภทแอนโทไซยานิน ละลายน้ำได้ สารหลักที่พบเป็นพวก ternatins ซึ่งเป็น acylated anthocyanins มีโครงสร้างเป็น malonylated delphinidin 3,3',5'-triglucosides โดย D-glucose และ *p*-coumaric acid ต่อที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 และ 5 ดังรูปที่ 1.7 ทำให้มีความเสถียรมากกว่า nonacylated anthocyanins อื่นๆ [11, 20, 21]



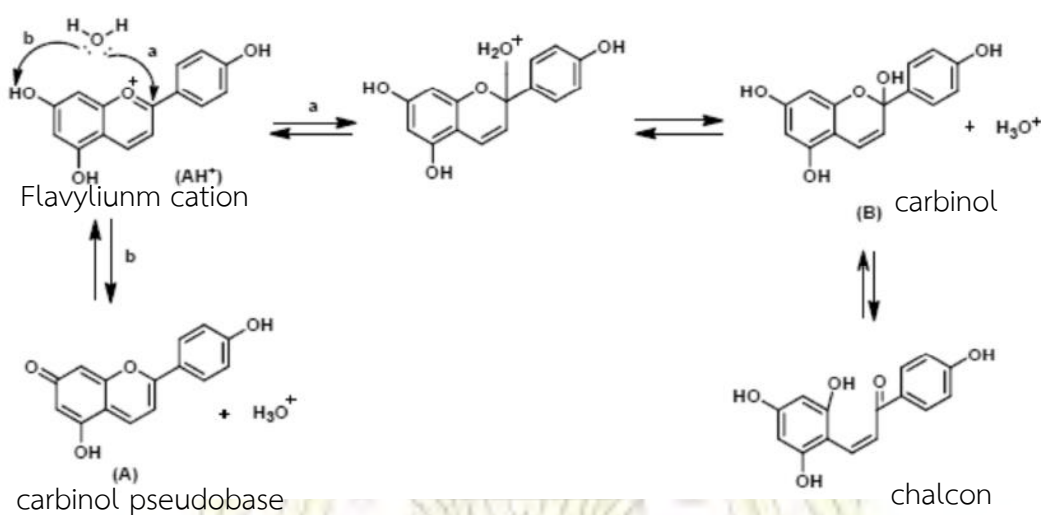
| Ternatin | R |
|----------|------------------|
| T - A1 | - CGCG or - CGCG |
| T - A2 | - CGCG or - CG |
| T - B1 | - CGCG or - CGC |
| T - B2 | - CGC or - CG |
| T - D1 | - CGC or - CGC |
| T - D2 | - CGC or - C |

C: *p*-Coumaric acid
G: D-Glc

รูปที่ 1.9 แสดงตัวอย่างโครงสร้างของ ternatins ในอัญชัน [22]

สีจากดอกอัญชันสามารถเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-เบสได้ และการเปลี่ยนแปลงสีเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ ternatin A1 ซึ่งเป็นแอนโทไซยานินกลุ่มใหญ่ในอัญชัน โดยแอนโทไซยานินซึ่งมีโครงสร้างเป็น oxinium ions และมีการคอนจูเกตของพันธะคู่ทั้ง 3 วงของอะโกลโคน

(aglycone) ทำให้สามารถเกิดการย้ายประจุบวกและเกิดโครงสร้างเรโซแนนซ์ขึ้น 4 รูปแบบ ได้แก่ flavilium cation มีสีแดง quinonoidal base มีสีน้ำเงินและแดง carbinol pseudobase และ chalcone ไม่มีสี (รูปที่ 1.3) โดยในสภาวะที่ pH ต่ำ แอนโทยานินมีโครงสร้างส่วนใหญ่เป็น flavilium cation มีการคอนจูเกตของพันธะคู่และดูตกลืนพลังงานในช่วงความยาวคลื่นแสง ซึ่งปรากฏสีแดง เมื่อ pH เพิ่มขึ้น แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนโครงสร้างเป็น quinonoidal base ที่ pH 4 และ 7 ซึ่งมี 2 tautomers และโครงสร้างมีส่วนคอนจูเกตเพิ่มขึ้น เกิด bathochromic shift ปรากฏสีฟ้าหรือม่วง สีฟ้าหรือม่วง และเมื่อ pH เพิ่มขึ้นมากกว่า 6 จะเปลี่ยนโครงสร้างเป็น carbinol pseudobase และหากสารสกัดแอนโทไซยานินจากอัญชันเจือจางในน้ำจะเกิดการไฮเดรชันของ flavylum cation (AH^+) ส่งผลให้แอนโทไซยานินเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ carbinol หรือ pseudobase และจะเกิดสมดุลอย่างช้าๆ จนกระทั่งอยู่ในรูปของ chalcone ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักที่ pH 4, 5 ดังรูปที่ 1.9 [11, 23]



รูปที่ 1.10 แสดงการไฮเดรชันของ flavylum cation (AH^+) ทำให้เกิดสมดุลของ Carbinol pseudobase (A) และ carbinol (B) [24]

เนื่องจากสารในดอกอัญชันมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบอยู่หลายโมเลกุล ทำให้มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี และสีจากดอกอัญชันสามารถเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่างได้ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับความสมดุลของไอออนของสารที่อยู่ในสารละลาย จึงมีงานวิจัยในปี 2015 Saptarini และคณะ ได้ศึกษาการนำสารสกัดจากดอกอัญชันมาเป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรด-เบส พบว่า สารสกัดอัญชันเกิดการเปลี่ยนสีจากม่วงไปเป็นน้ำเงินที่ pH 4 เปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินไปเป็นเขียวที่ pH 9 และเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลืองที่ pH 12 สารสกัดอัญชันจึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรด-เบสได้ [24]

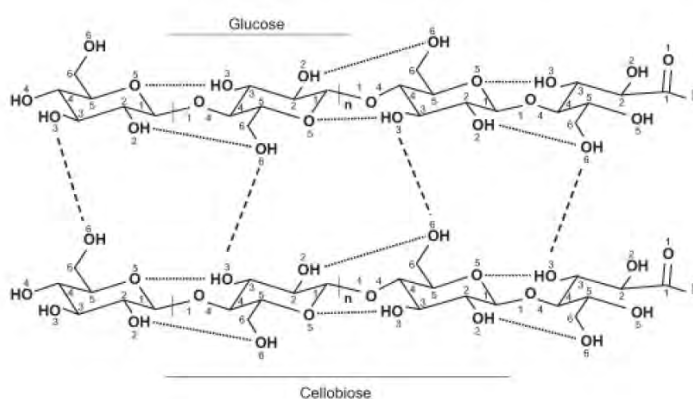
ในปี 2009 Chaovanalikit และคณะ ได้ศึกษาผลของ pH และอุณหภูมิต่อสีและความคงตัวของสารสกัดจากอัญชัน โดยนำสารสกัดอัญชันที่ pH 2, 4, 6, 8 และ 10 มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่า อุณหภูมิมีผลต่อความคงตัวของสารสกัดอัญชันที่ pH 8 โดยเมื่ออุณหภูมิ

สูงขึ้นจะทำให้ค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินในสารสกัดมีค่าลดลงและร้อยละของสีของพอลิเมอร์มีค่ามากขึ้น [25]

ในปี 2010 Abdullah และคณะ ได้ศึกษาสีของสารสกัดอัญชันและความเสถียรของอัญชันในสภาวะกรดและเบส พบว่า สารสกัดอัญชันให้สีแดง ม่วง น้ำเงิน น้ำเงินเขียว เขียว และเหลืองที่ pH 0.05-12.0 และสารละลายอัญชันในสภาวะกรดมีความเสถียรในการเก็บรักษามากกว่าสภาวะเบส โดยในสภาวะกรดมีการสลายตัวเพียง 20-30% เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 27 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วัน และสารสกัดอัญชันเก็บได้นานอย่างน้อย 1 ปีเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส [26]

1.2.4 เซลลูโลสจากแบคทีเรีย (bacterial cellulose)

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย (bacterial cellulose) เป็นวัสดุธรรมชาติ รู้จักกันในชื่อ Nata de Coco หรือ วุ้นมะพร้าว เป็นผลผลิตจากการหมักแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* (*Gluconacetobacter xylinus*) ในน้ำมะพร้าว โครงสร้างภายในเป็นไฟบริล หรือสายโซ่เบต้า 1, 4 กลูแคน ประกอบด้วยหน่วยย่อยกลูโคสประมาณ 2,000- 18,000 หน่วย มีขนาดเล็กกว่าเส้นใยของพืช 100 เท่า และสายกลูแคนเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจนทำให้เกิดโครงข่ายสามมิติ เป็นแผ่นไฮโดรเจลที่มีพื้นที่ผิวมาก และมีรูพรุน มีความบริสุทธิ์สูง ไม่มีการเจือปนของเอมิเซลลูโลส ลิกนิน และเพกติน เหมือนเซลลูโลสจากพืช มีปริมาณเซลลูโลสต่อน้ำหนักเปียกประมาณ 1.0% ซึ่งมากกว่าเซลลูโลสที่ได้จากพืช มีอันดับการเกิดพอลิเมอร์ไรเซชันสูง สามารถอุ้มน้ำได้มาก ประมาณ 60-700 เท่าของน้ำหนักแห้ง มีความแข็งแรงสูงและมีความเป็นผลึกสูง แบคทีเรียเซลลูโลสจึงถูกนำมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ อิเล็กทรอนิกส์ และทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร [27, 28]



รูปที่ 1.11 การเกิดพันธะไฮโดรเจนของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย [28]

ตัวอย่างงานวิจัยการนำเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ประโยชน์ เช่น ด้านการแพทย์ ในปี 2005 Svensson และคณะ ค้นพบว่าแบคทีเรียเซลลูโลสสามารถนำมาทดแทนในวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนได้

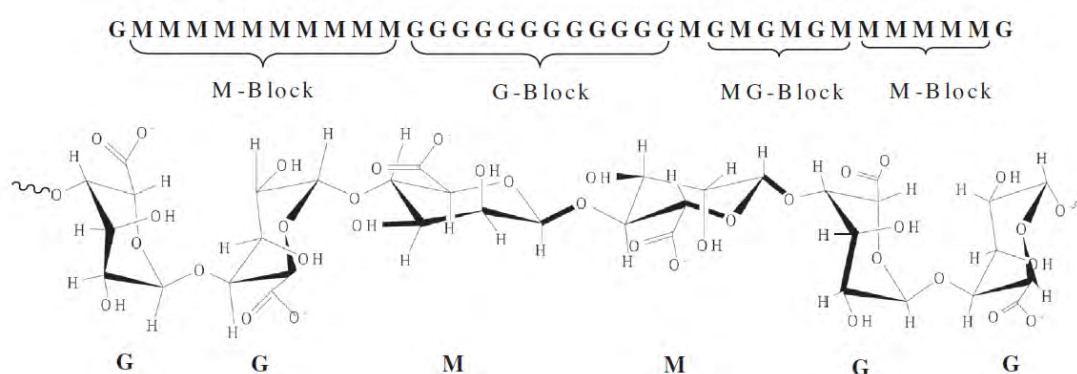
โดยไม่ก่อให้เกิดการอักเสบ ซึ่งจะกระตุ้นการเพิ่มคอนโดโรไซต์ (chondrocyte) และคอลลาเจน (collagen) จึงสามารถนำแบคทีเรียเซลลูโลสมาเป็นวัสดุชีวภาพทดแทนได้ [29]

ในปี 2009 Chen และคณะ ได้ปรับปรุงคาร์บอกซีเมทิลเลดแบคทีเรียเซลลูโลส เพื่อใช้ในการดูดซับโลหะหนักของแดงและตะกั่ว ซึ่งพบว่าทั้งแบคทีเรียเซลลูโลสและคาร์บอกซีเมทิลเลดแบคทีเรียเซลลูโลสสามารถดูดซับโลหะหนักได้ดี [30]

ในปี 2017 Pourjavaher และคณะ [8] ได้พัฒนาแผ่นตรวจวัดกรด-เบส โดยใช้แบคทีเรียเซลลูโลสเป็นตัวดูดซับแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีม่วง ซึ่งแผ่นตรวจวัดสามารถอุ้มน้ำได้ดี ไม่เป็นอันตราย ไม่ต้านการเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานินเมื่อ pH เปลี่ยนแปลง สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อัจฉริยะในอาหารได้

1.2.5 แอลจีเนต

แอลจีเนตเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ ที่สกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Macrocystis pyrifera* โครงสร้างประกอบด้วย กรดเบตา-D-แมนนูโรนิก (β -D-mannuronic acid, M) และ กรดแอลฟา-แอล-กลูโรนิก (α -L-guluronic acid, G) ในสายโซ่นี้จะอยู่ในรูปของโฮโมโพลิเมอร์ คือ MM และ GG Blocks หรือเฮเทอโรโพลิเมอร์ คือ MG-Block สามารถละลายน้ำและอยู่ในรูปคาร์บอกซิเลต [31]



รูปที่ 1.12 รูปแบบและโครงสร้างการเกิดสายโซ่ของแอลจีเนต [31]

แอลจีเนตสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น การขนส่งยา การดูดซับโลหะ การเพิ่มประสิทธิภาพการเก็บรักษาสาร

ในปี 2008 Papageorgiou และคณะ พบว่าเมื่อแอลจีเนตเกิดพันธะเชื่อมโยง (cross-linked) กับแคลเซียมไอออน มีประสิทธิภาพในการดูดซับไอออนของโลหะทองแดงและแคดเมียมในสารละลายโลหะเจือจาง [32]

ในปี 2016 Li และคณะ ได้ศึกษาการนำแอลจินเตมาช่วยในการขนส่งยา apatite เพื่อรักษาโรคกระดูก โดยใช้แอลจินเตที่เกิดพันธะเชื่อมโยงกับแคลเซียมคลอไรด์ที่หุ้มด้วยยาไว้ภายใน ซึ่งแอลจินเตมีประสิทธิภาพในการปลดปล่อยตัวยา [33]

ในปี 2016 Vasile และคณะ ได้ศึกษาการนำแคลเซียมแอลจินเต-โคโตซานมาหุ้มเพื่อยืดระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำมันปลา และใช้ *Prosopis alba* เป็นสารป้องกันการออกซิไดซ์ของน้ำมันปลา พบว่าวิธีการนี้สามารถเพิ่มความเสถียรและลดการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันปลาได้ [34]

นอกจากนี้แอลจินเตมีหมู่ฟังก์ชันสำคัญคือ หมู่คาร์บอกซิล และไฮดรอกซิล ซึ่งมีผลต่อการผลิตและสมบัติของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

ในปี 2007 Zhou และคณะ ได้ศึกษาผลของการเติมโซเดียมแอลจินเตในกระบวนการผลิตวันมะพร้าว พบว่าแอลจินเตทำให้โครงข่ายสามมิติของเซลลูโลสจากแบคทีเรียเปลี่ยนไป มีความเป็นรูพรุนมากขึ้น และโซเดียมแอลจินเตจะเกาะอยู่บนพื้นผิวของโครงข่ายแบคทีเรียเซลลูโลส โดยโซเดียมแอลจินเตและสายแบคทีเรียเซลลูโลสดึงดูดกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ส่งผลให้มีสมบัติเปลี่ยนแปลงไป เช่น สมบัติเชิงกล ความสามารถอุ้มน้ำ และการทนต่อความร้อน [35]

ในปี 2010 Kanjanamosit และคณะ ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายแอลจินเตที่เติมลงในกระบวนการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส พบว่าแอลจินเตที่เพิ่มขึ้นส่งผลต่อการเพิ่มความเป็นไฮโดรฟิลิก เพิ่มการดูดซับน้ำ และลดขนาดของโพรงเส้นใยแบคทีเรียเซลลูโลส [36]

นอกจากนี้ในปี 2014 Sirvio และคณะ ได้ศึกษาการนำแอลจินเตมาผสมกับไมโครไฟบริลเลตเซลลูโลส (microfibrillated cellulose) นาโนไฟบริลเลตเซลลูโลส (nanofibrillated cellulose) และนาโนไฟบริลเลตแอนไอออนิกไดคาร์บอกซิลิกแอซิดเซลลูโลส (nanofibrillated anionic dicarboxylic acid cellulose) จากนั้นนำสารละลายแอลจินเตมาเกิดพันธะเชื่อมโยง (cross-linked) กับแคลเซียมไอออน พบว่ามีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น ทนต่อการฉีกขาดมากขึ้น และสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัสดุบรรจุภัณฑ์ [37]

1.3 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาผลของพีเอชต่อการเกิดสีของแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน
2. ศึกษาผลของแสงและความร้อนต่อความเสถียรของแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน
3. พัฒนาแผ่นตรวจวัดพีเอชด้วยเซลลูโลสและแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถพัฒนาแผ่นตรวจวัดที่สามารถบ่งบอกระดับความเป็นกรดและเบส ซึ่งเตรียมจากแบคทีเรียเซลลูโลสแอลจินเตและแอนโทไซยานินจากดอกอัญชันได้

บทที่ 2

วิธีการทดลอง

2.1 สารเคมีและเครื่องมือที่สำคัญ

- ดอกอัญชันสดจากตลาดบางบอน จังหวัดกรุงเทพมหานคร
- แบคที่เรียเชลลูโลส เตรียมจากวุ้นมะพร้าวที่ไม่มีน้ำตาล
- เมทานอล จากบริษัท RCI labscan
- โซเดียมแอลจินเต จากบริษัท ทริปเปิ้ลไจน์ โซลูชั่น จำกัด
- เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ รุ่น Agilent 8453
- ตู้อบ ยี่ห้อ Memmert รุ่น UF110
- เครื่องกลั่นลดความดัน ยี่ห้อ Buchi รุ่น R114
- ยูนิเวอร์ซัลอินดิเคเตอร์ จากบริษัท เมอร์ค จำกัด

2.2 การสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน

นำดอกอัญชันสดที่เด็ดช่อดอกออกแล้ว 840 กรัม แช่ในเมทานอล 1.7 ลิตร เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นกรองแยกกากด้วยผ้าขาวบาง สกัดกากดอกอัญชันซ้ำอีก 1 ครั้ง จากนั้นนำส่วนของเหลวมาระเหยเมทานอลออกโดยใช้เครื่องกลั่นลดความดัน จะได้สารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน (anthocyanin extract of butterfly pea, BPA_n) 41.1 กรัม

2.3 การแยกสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชันด้วยคอลัมน์ Diaion HP20

นำ BPA_n 17 กรัม ละลายในเมทานอล 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายนี้แยกด้วยคอลัมน์ Diaion HP20 โดยเริ่มชะด้วยน้ำกลั่น ทำการชะด้วยน้ำกลั่นจนกว่าน้ำที่ชะออกมาจากคอลัมน์ไม่มีสี จากนั้นชะคอลัมน์ด้วยเมทานอลและอะซิโตน ตามลำดับ จะได้ส่วนย่อยน้ำ (BPA_n-W) ส่วนย่อยเมทานอล (BPA_n-M) และส่วนย่อยอะซิโตน (BPA_n-A) ตามลำดับ นำ BPA_n-M ไประเหยตัวทำละลายออกให้หมดด้วยเครื่องกลั่นลดความดัน จะได้สารสกัด BPA_n-M น้ำหนัก 3.3 กรัม

2.4 การตรวจสอบสีของสารสกัดแอนโทไซยานินก่อนและหลังผ่านคอลัมน์ Diaion HP20 ที่พีเอช 1-14

เตรียมสารละลายของ BPA_n ในน้ำ ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แบ่งใส่ขวดเล็ก ขวดละ 5 มิลลิลิตร จำนวน 14 ขวด ปรับพีเอช (pH) ของสารละลายแต่ละขวดให้มี pH 1-14 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

เตรียมสารละลายของ BPA_n ในเมทานอล pH 1-14 ด้วยวิธีเช่นเดียวกันกับการเตรียมสารละลาย BPA_n ในน้ำ

เตรียมสารละลาย BPA_n-M ในน้ำและเมทานอล pH 1-14 ด้วยวิธีเช่นเดียวกันกับการเตรียมสารละลาย BPA_n ในน้ำ แต่เตรียมที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

นำสารละลายที่ pH 1-14 ทั้งหมดมาเปรียบเทียบและบันทึกสี นอกจากนี้ทำการตรวจสอบสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลาย BPA_n และ BPA_n-M ในน้ำ ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

2.5 ศึกษาความเสถียรต่อแสงและความร้อนของ BPA_n และ BPA_n-M ในน้ำ

เตรียมสารละลาย BPA_n และ BPA_n-M ในน้ำ ความเข้มข้น 1 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ที่ pH 2, 3, 5, 7 และ 9 ในขวดเล็กที่มีฝาปิดสนิท ขนาด 5 มิลลิลิตร

ชุดที่ 1 ศึกษาความเสถียรต่อแสง โดยนำสารละลายที่ pH ต่างๆ ตั้งทิ้งไว้ให้โดนแสงธรรมชาติ และตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย เมื่อเวลาผ่านไป 1, 3 และ 6 วัน

ชุดที่ 2 ศึกษาความเสถียรต่อความร้อน โดยนำขวดสารละลายที่ pH ต่างๆ จุ่มลงในน้ำที่มีอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายหลังจากให้ความร้อนเป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง

ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย pH 2 ที่ความยาวคลื่น 548 นาโนเมตร pH 3 และ 5 ที่ความยาวคลื่น 619 นาโนเมตร และ pH 7 และ 9 ที่ความยาวคลื่น 629 นาโนเมตร [25] และเปรียบเทียบร้อยละการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสง

$$\text{ร้อยละการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสัมพัทธ์} = \left(1 - \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น} - \text{ค่าการดูดกลืนแสง ณ เวลาที่กำหนด}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น}} \right) \times 100$$

2.6 ศึกษาการดูดซับสีแอนโทไซยานินบนแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลส

นำวุ้นมะพร้าวมาสเตอร์ให้มีความหนาประมาณ 0.2 เซนติเมตร จากนั้นนำมากำจัดโปรตีนและแบคทีเรียที่ยังมีชีวิตอยู่ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และล้างวุ้นมะพร้าวจนเป็นกลางด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำมาเตรียมเป็นแผ่นดูดซับสีแบบต่างๆ ดังนี้

แบบที่ 1 แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสควบคุม (control bacteria cellulose, BC)

แบบที่ 2 แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่ผ่านการไฮโดรไลซิส (BC-Hy) ด้วยกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และล้างวุ้นมะพร้าวจนเป็นกลางด้วยน้ำกลั่น

แบบที่ 3 แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่ผ่านการแช่สารละลายแอลจินेट (BC-Alg) ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 5 ชั่วโมง โดยกวนสารละลายตลอดเวลา

แบบที่ 4 แผ่นวุ้นมะพร้าวที่ผ่านการแช่สารละลายน้ำตาล (BC-Sugar) โดยซื้อมาจากตลาด และสไลด์ให้มีความหนา 0.2 เซนติเมตร และไม่ผ่านการกำจัดโปรตีนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

นำแผ่นวุ้นมะพร้าวแต่ละแบบ แช่ในสารละลาย BPA_n ในน้ำ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 1 คืน โดยกวนสารละลายตลอดเวลา จากนั้นนำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง นำแผ่นวุ้นมะพร้าวที่อบแห้งแล้วมาจุ่มในสารละลาย pH 2, 3, 5, 7, 9 และ 11 เป็นเวลา 10 วินาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่า และบันทึกสีที่ปรากฏด้วยภาพถ่าย

2.7 ศึกษาความเข้มข้นของแอนโทไซยานินบนแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสแอลจินेटต่อการเปลี่ยนสีที่ pH ต่างๆ

นำแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสแอลจินेट (แบบที่ 3 ในหัวข้อ 2.6) มาแช่ในสารละลาย BPA_n ในน้ำที่ความเข้มข้น 2, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 1 คืน โดยกวนสารละลายตลอดเวลา จากนั้นนำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง นำแผ่นวุ้นมะพร้าวที่อบแห้งแล้วมาจุ่มในสารละลาย pH 2, 3, 5, 7, 9 และ 11 เป็นเวลา 10 วินาที ใช้ตาเปล่าในการสังเกตสีที่เปลี่ยนแปลง และบันทึกสีที่ปรากฏด้วยภาพถ่าย

2.8 ศึกษาลักษณะทางกายภาพและเคมีของแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลส

ตรวจสอบสัณฐานวิทยาด้วยภาพถ่ายอิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อิมิสชัน (FE-SEM) และหมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FTIR) ของแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่ผ่านการกำจัดโปรตีนด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (bacteria cellulose, BC) แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่แช่ในสารละลายแอลจินेट (BC-Alg) และแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสแอลจินेटที่แช่ในสารละลาย BPA_n (BC-Alg-BPA_n)

บทที่ 3

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การแยกสารสกัดจากดอกอัญชันด้วยการผ่านคอลัมน์ Diaion HP20

แยกสารสกัดอัญชัน BPA_n ด้วยคอลัมน์ Diaion HP20 และชะคอลัมน์ด้วยน้ำกลั่น เมทานอล และอะซีโตน ตามลำดับ เก็บสารละลายที่ผ่านคอลัมน์ดังกล่าว ได้เป็น BPA_n-W, BPA_n-M, BPA_n-A ตามลำดับ

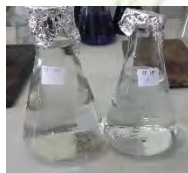
BPA_n-W คือสารละลายที่ชะด้วยน้ำกลั่น พบว่ามีสารละลายสีเขียวออกมาเป็นอันดับแรก หลังจากนั้นได้ส่วนสีน้ำเงินไหลออกมาตามลำดับ ดังรูปที่ 3.1ก เมื่อชะด้วยเมทานอล จะพบว่าสารละลายที่ออกมา (BPA_n-M) มีสีน้ำเงินเข้มขึ้นอย่างชัดเจน ดังรูปที่ 3.1ข ส่วนสารละลายที่ชะด้วยอะซีโตน (BPA_n-A) จะมีสีส้มอ่อนจนเกือบใส ดังรูปที่ 3.1ค



ก.



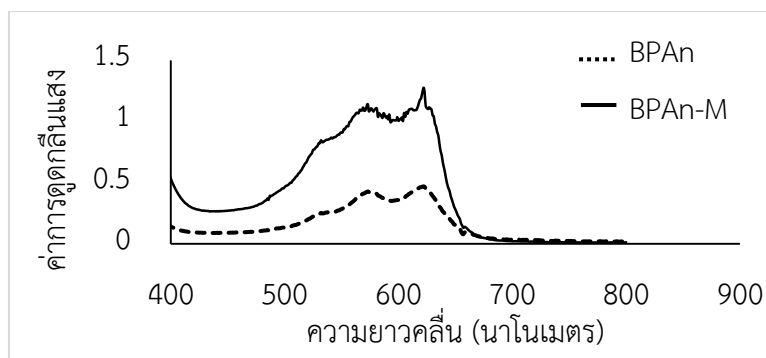
ข.



ค.

รูปที่ 3.1 สีของสารละลายที่ผ่านคอลัมน์ Diaion HP20 เรียงจากซ้ายไปขวาตามลำดับ ซึ่งชะด้วย ก. น้ำ
ข. เมทานอล และ ค. อะซีโตน

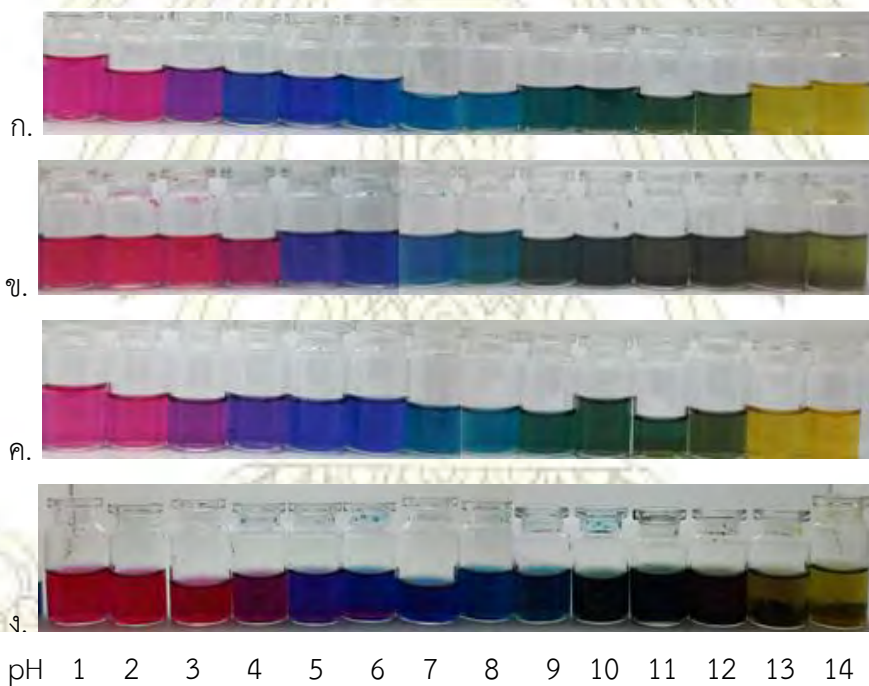
จากที่ได้กล่าวมาจะเห็นได้ว่าแอนโทไซยานินส่วนใหญ่จะถูกชะออกมาด้วยเมทานอล เมื่อนำสารสกัดแห้งของ BPA_n และ BPA_n-M ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสง พบว่า BPA_n-M มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด 623 นาโนเมตร สูงกว่า BPA_n 2.7 เท่า (รูปที่ 3.2) แสดงว่าสามารถเพิ่มความเข้มข้นของแอนโทไซยานินในสารสกัดอัญชันได้โดยผ่านคอลัมน์ Diaion HP20



รูปที่ 3.2 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ BPA และ BPA-M ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2 ตรวจวัดสีที่พีเอชต่าง ๆ ของสิ่งสกัดอัญชันก่อนและหลังผ่านคอลัมน์ Diaion HP20

สีของสารสกัด BPA และ BPA-M ในน้ำและเมทานอลที่ pH 1-14 แสดงในรูปที่ 3.3 และตารางที่ 3.1 จะเห็นได้ว่าที่ pH ต่าง ๆ สีของสารสกัดในเมทานอลเข้มกว่าในน้ำ และพบการตกตะกอนที่ pH 13 และ 14 ในเมทานอล โดยการเปลี่ยนสีเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานินและการคอนจูเกตของพันธะคู่ในสภาวะกรด-เบส ทำให้มีการดูดกลืนพลังงานที่ความยาวคลื่นต่างกัน และปรากฏสีที่ต่างกัน



รูปที่ 3.3 สีของสารสกัด ก. BPA ในน้ำ ข. BPA ในเมทานอล ค. BPA-M ในน้ำ และ ง. BPA-M ในเมทานอล ที่ pH 1-14

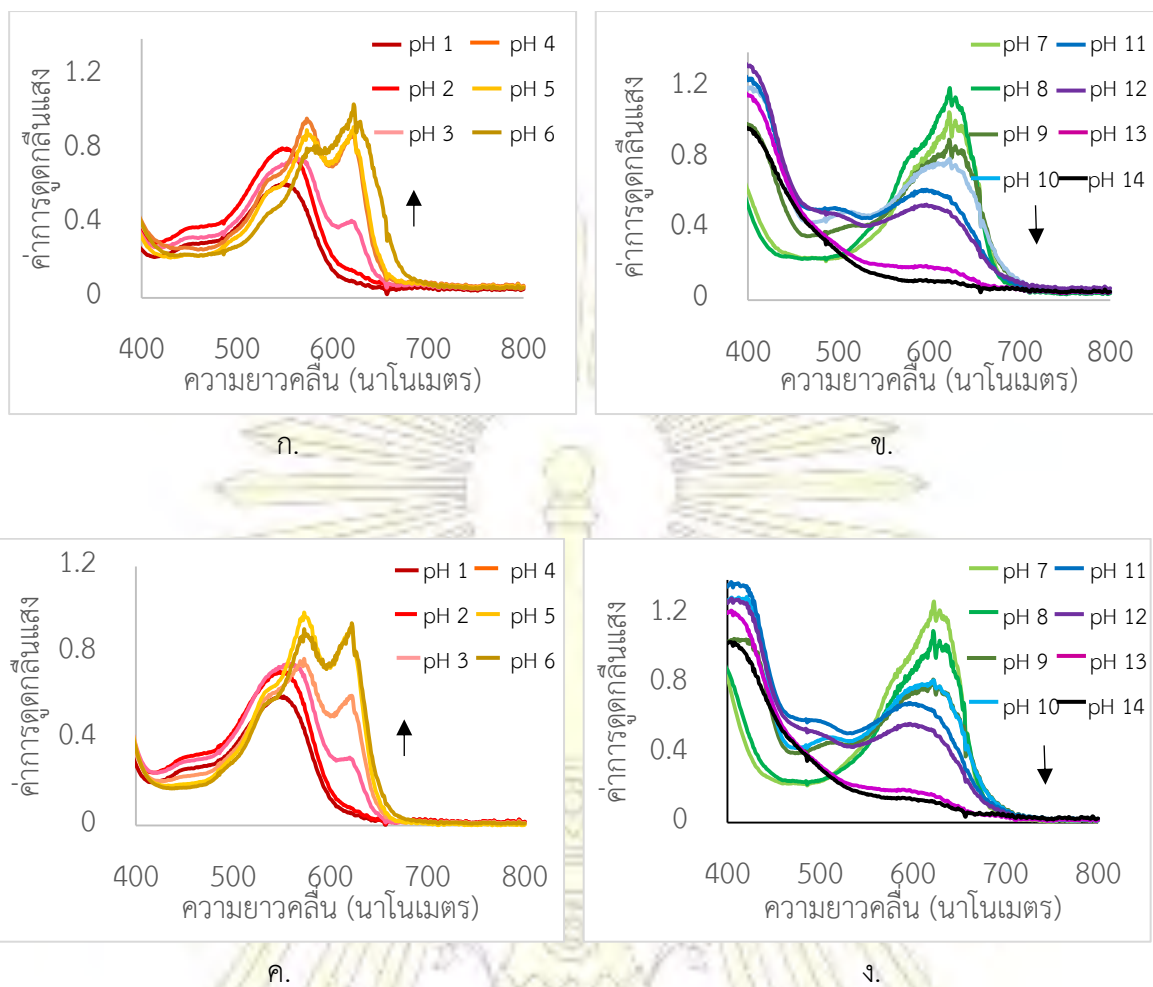
ตารางที่ 3.1 สีของสารสกัด BPA_n และ BPA_n-M ในน้ำและเมทานอลที่ pH 1-14

| pH | BPA _n ในน้ำ | BPA _n ในเมทานอล | BPA _n -Me ในน้ำ | BPA _n -Me ในเมทานอล |
|----|------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| 1 | ชมพูบานเย็น | แดง | ชมพูบานเย็น | แดง |
| 2 | ชมพูบานเย็น | แดง | ชมพูบานเย็น | แดง |
| 3 | ม่วง | แดง | ม่วง | แดง |
| 4 | น้ำเงิน | ม่วงแดง | น้ำเงิน | ม่วงแดง |
| 5 | น้ำเงิน | น้ำเงิน | น้ำเงิน | น้ำเงิน |
| 6 | น้ำเงิน | น้ำเงิน | น้ำเงิน | น้ำเงิน |
| 7 | ฟ้าน้ำเงิน | น้ำเงิน | ฟ้าน้ำเงิน | น้ำเงิน |
| 8 | ฟ้าเขียว | ฟ้าเขียว | ฟ้าเขียว | ฟ้าเขียว |
| 9 | เขียว | เขียว | เขียว | เขียว |
| 10 | เขียว | เขียว | เขียว | เขียว |
| 11 | เขียว | เขียว | เขียว | เขียว |
| 12 | เขียว | เขียว | เขียว | เขียว |
| 13 | เหลือง | เหลืองเขียว | เหลือง | เหลืองเขียว |
| 14 | เหลือง | เหลืองเขียว | เหลือง | เหลืองเขียว |

นอกจากนี้ได้ทำการตรวจวัดการดูดกลืนแสงของสารละลาย BPA_n และ BPA_n-M ในน้ำ เพื่อหาความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{\max}) ที่ pH ต่าง ๆ (รูปที่ 3.4) สำหรับใช้ตรวจวัดในการทดลองอื่น ๆ ต่อไป ค่าความยาวคลื่นสูงสุด แสดงไว้ในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ความยาวคลื่นการดูดกลืนสูงสุดของสารสกัด BPA_n และ BPA_n-M ในน้ำที่ pH 1-14

| pH | λ_{\max} (นาโนเมตร) | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|-----------------------------|-----|-------------|-------------|-------------|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| BPA _n | 552 | 547 | 573, 620 | 573, 620 | 573, 620 | 573, 622 | 629 | 629 | 629 | 629 | 605 | 605 | 596 | 591 |
| BPA _n - M | 547 | 547 | 555, 611 | 573, 622 | 573, 620 | 573, 622 | 623 | 622 | 622 | 623 | 597 | 605 | 589 | 597 |



รูปที่ 3.4 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ BPA ในน้ำ ก. ที่ pH 1-6 ข. ที่ pH 7-14 และของ BPA-M ในน้ำ ค. ที่ pH 1-6 และ ง. ที่ pH 7-14

3.3 ศึกษาความเสถียรของสารสกัดอัญชันต่อแสงและความร้อน

3.3.1 ความเสถียรของ BPA_n และ BPA_n-M ต่อแสง

สารละลาย BPA_n ในน้ำ ที่ pH 2, 3, 5, 7 และ 9 เมื่อตั้งทิ้งไว้ให้โดนแสงแดดธรรมชาติเป็นเวลา 0, 1, 3 และ 6 วัน พบว่าสีของสารละลาย BPA_n ที่ pH 7 และ 9 เปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน (รูปที่ 3.5ก.) คือที่ pH 7 สารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำเงินฟ้าเป็นสีน้ำเงิน และ pH 9 สารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน แต่ความยาวคลื่นสูงสุดไม่เปลี่ยนแปลง (รูปที่ 3.6)

ส่วนสารละลาย BPA_n-M ในน้ำ ที่ pH 2, 3, 5, 7 และ 9 เมื่อตั้งทิ้งไว้ให้โดนแสงแดดธรรมชาติเป็นเวลา 0, 1, 3 และ 6 วัน พบว่าที่ pH 9 มีความเข้มของสีเขียวลดลงอย่างชัดเจน (รูปที่ 3.5ข.) แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงโทนสีและความยาวคลื่นสูงสุดไม่เปลี่ยนแปลงในทุก pH (รูปที่ 3.7)



รูปที่ 3.5 สารละลาย ก. BPA_n และ ข. BPA_n-M เมื่อได้รับแสงธรรมชาติเป็นเวลา 0, 1, 3 และ 6 วัน

เมื่อเขียนกราฟระหว่างการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละ pH กับเวลา ได้ดังรูปที่ 3.8 โดยพบว่า

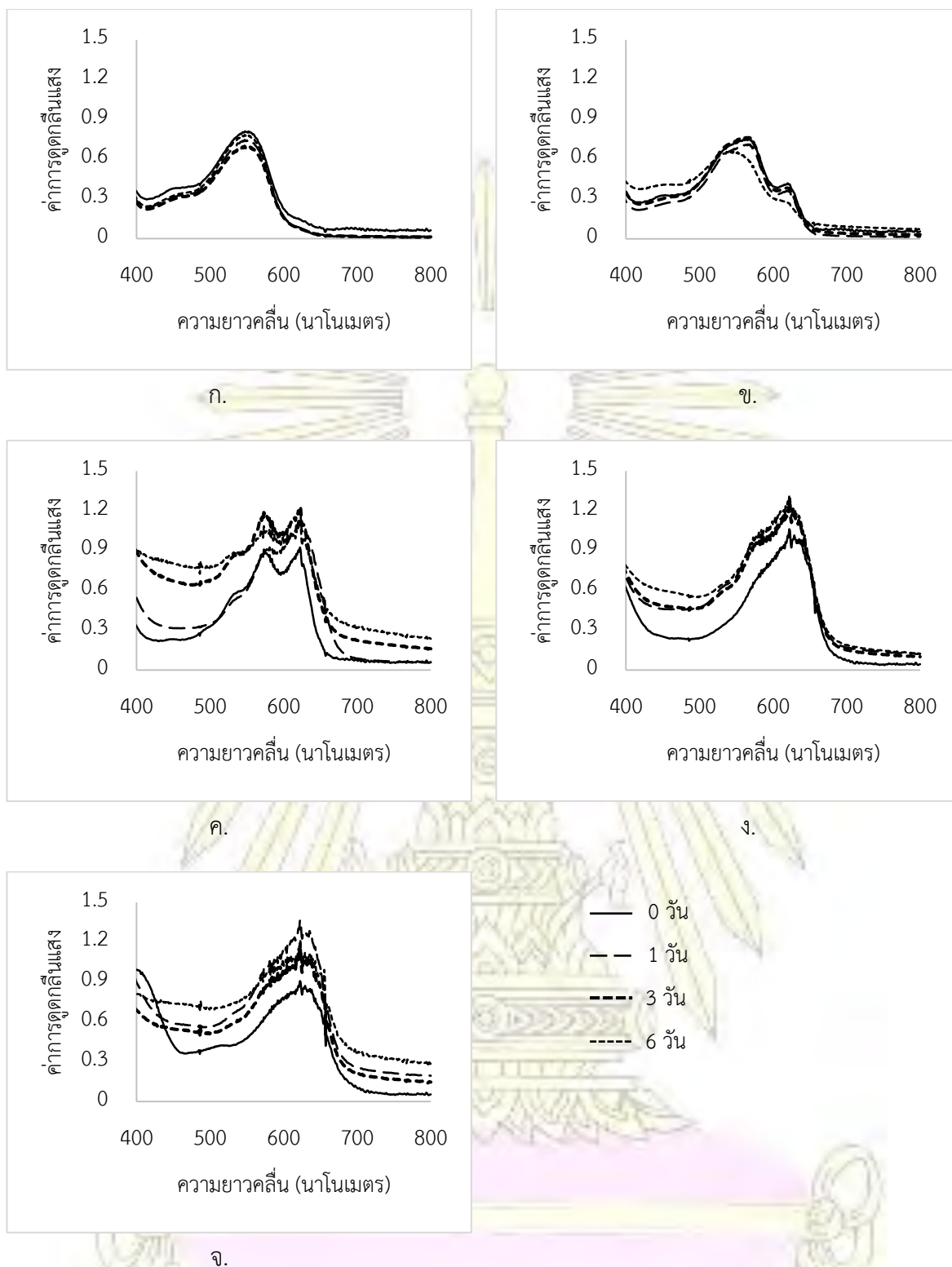
- ที่ pH 2 ทั้งสองสารสกัดมีการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงน้อยมาก
- ที่ pH 3 ทั้งสองสารสกัดมีค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลง โดยสารสกัด BPA_n ลดลงมากกว่าสารสกัด

BPA_n-Me

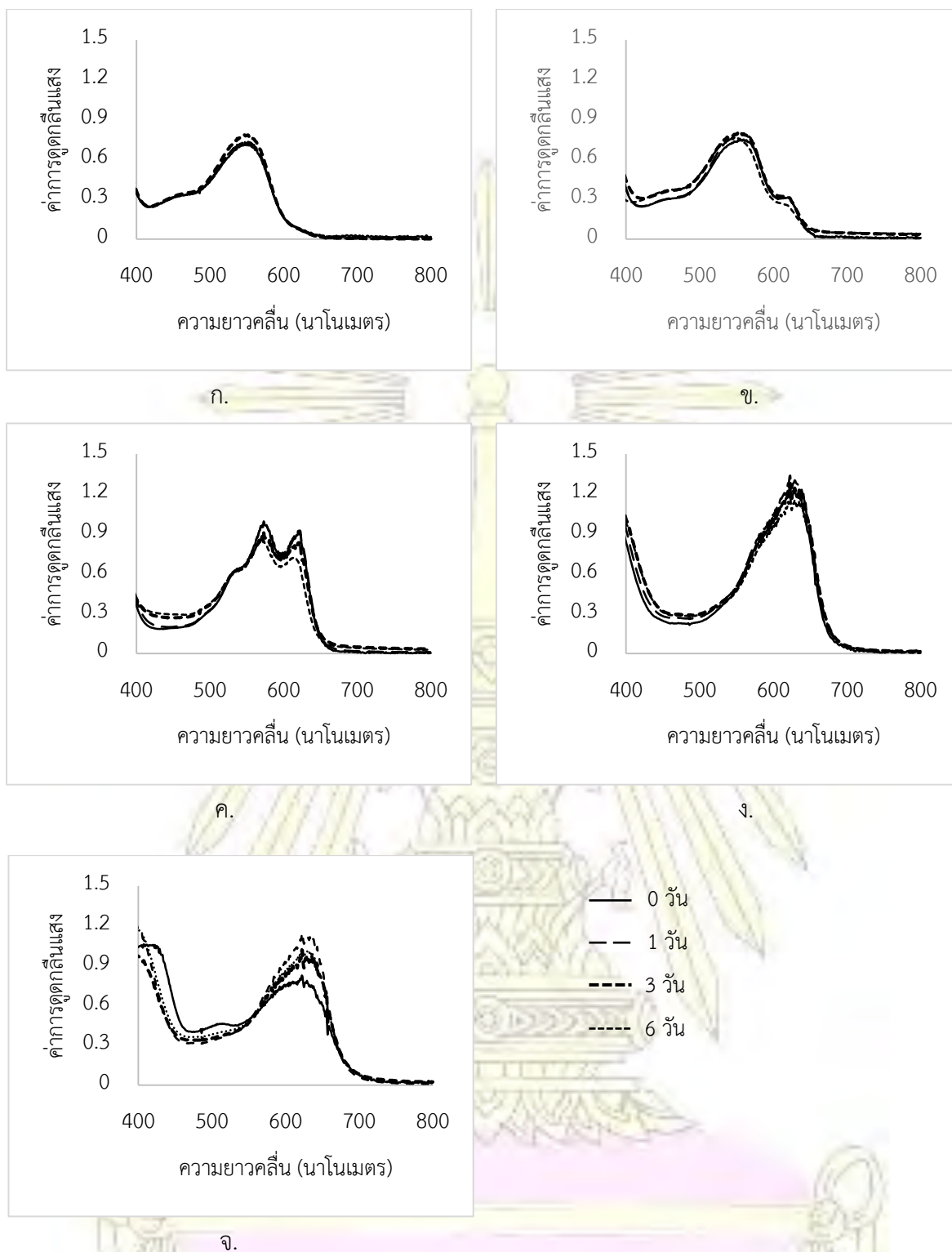
- ที่ pH 5 และ 7 สารสกัด BPA_n มีค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้น แต่สารสกัด BPA_n-M มีค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลง

- ที่ pH 9 ทั้งสองสารสกัดมีการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้น

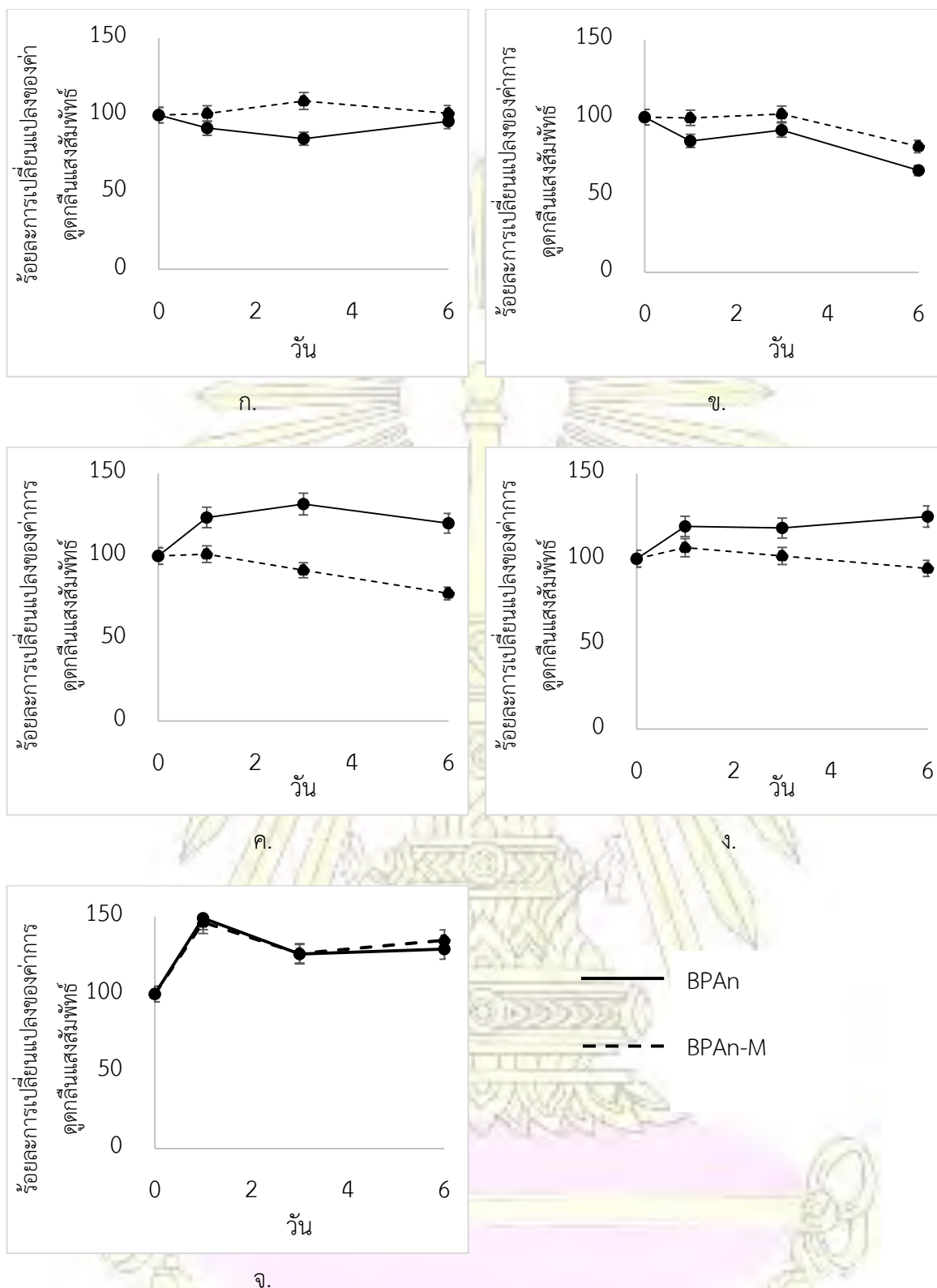
BPA_n-M ที่ pH 2, 3, 5 และ 7 มีการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงน้อยกว่า BPA_n (รูปที่ 3.8 ก-ง) และที่ pH 9 สารสกัด BPA_n-M และ BPA_n มีการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงไม่แตกต่างกัน (รูปที่ 3.8 จ) แสดงให้เห็นว่าแสงมีผลต่อความเสถียรของสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน แต่สารสกัดที่ผ่านคอลัมน์ Diaion HP20 ไม่สามารถสรุปได้ว่าช่วยเพิ่มความเสถียรต่อแสงได้จริงหรือไม่ อาจจะต้องทำการทดลองโดยศึกษาแต่ละความยาวคลื่นของแสง และควบคุมปริมาณแสงให้คงที่ตลอดระยะเวลาการทดลอง



รูปที่ 3.6 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ BPA ที่ ก. pH 2 ข. pH 3 ค. pH 5 ง. pH 7 และ จ. pH 9 เมื่อได้รับแสงธรรมชาติเป็นเวลา 0, 1, 3 และ 6 วัน



รูปที่ 3.7 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ BPA-n-M ที่ ก. pH 2 ข. pH 3 ค. pH 5 ง. pH 7 และ จ. pH 9 เมื่อได้รับแสงธรรมชาติเป็นเวลา 0, 1, 3 และ 6 วัน



รูปที่ 3.8 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดของสารละลาย BPA และ BPA-M ที่ ก.pH 2 (λ_{max} 548 nm) ข.pH 3 (λ_{max} 619 nm) ค.pH 5 (λ_{max} 619 nm) ง.pH 7 (λ_{max} 629 nm) และ จ.pH 9 (λ_{max} 629 nm) เมื่อได้รับแสงธรรมชาติ

3.3.2 ความเสถียรของ BPA_n และ BPA_n-M ต่อความร้อน

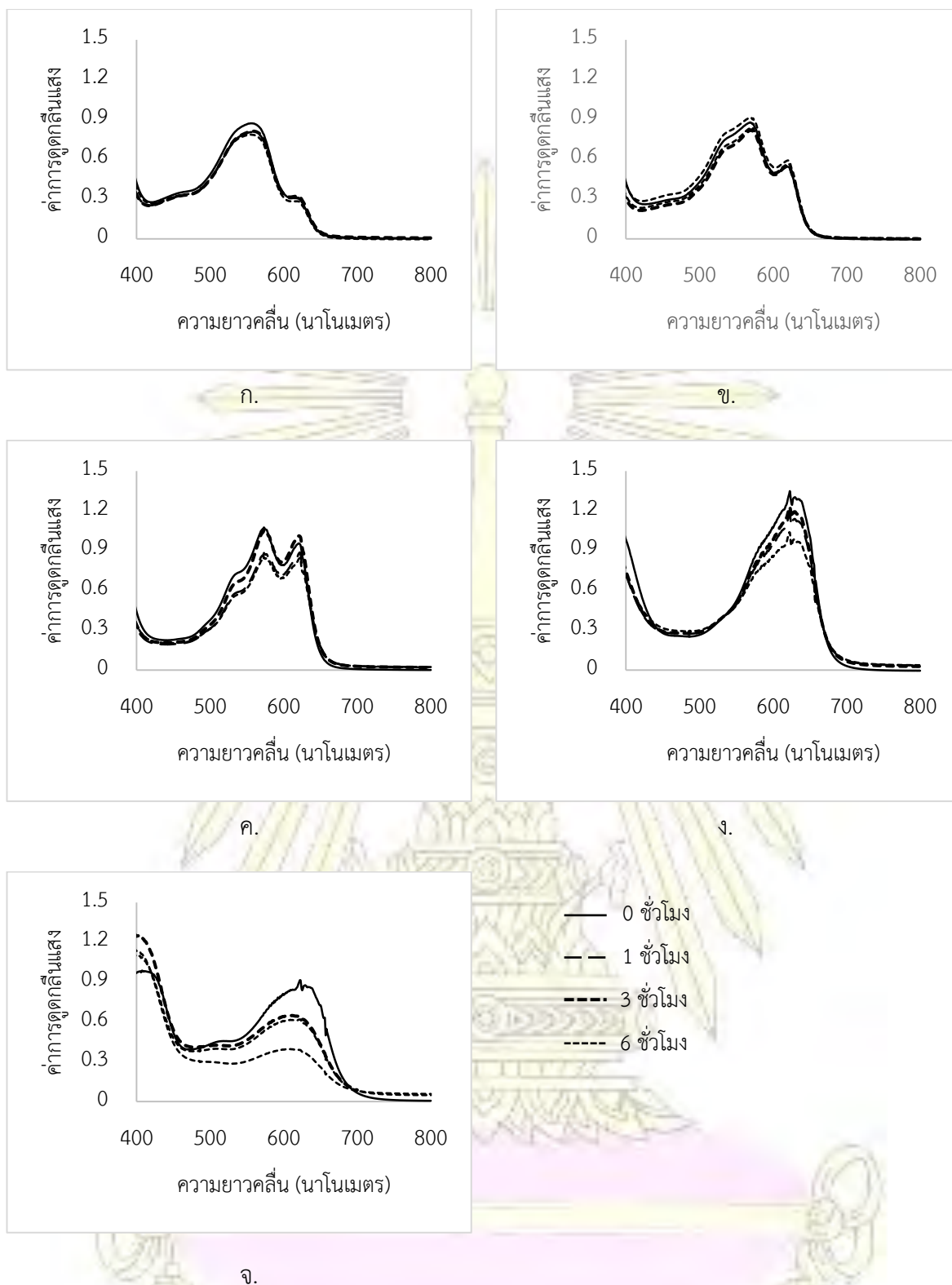
สารละลาย BPA_n ในน้ำ ที่ pH 2, 3, 5, 7 และ 9 เมื่อให้ความร้อน 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง พบว่าสีของสารละลาย BPA_n ที่ pH 9 จางลงอย่างชัดเจน (รูปที่ 3.9 ก) และค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด ที่ pH 2, 3, 5 และ 7 มีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าที่ pH 9 (รูปที่ 3.10)

ส่วนสารละลาย BPA_n-M ในน้ำ ที่ pH 2, 3, 5, 7 และ 9 เมื่อให้ความร้อน 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง พบว่าสีของสารละลาย BPA_n-Me ที่ pH 7 เปลี่ยนจากสีน้ำเงินฟ้าเป็นสีเขียว และ pH 9 สีเขียวจางลงอย่างชัดเจน (รูปที่ 3.9 ข) และค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด ที่ pH 2, 3, 5 และ 7 มีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า pH 9 ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงลดลงอย่างชัดเจน (รูปที่ 3.11)

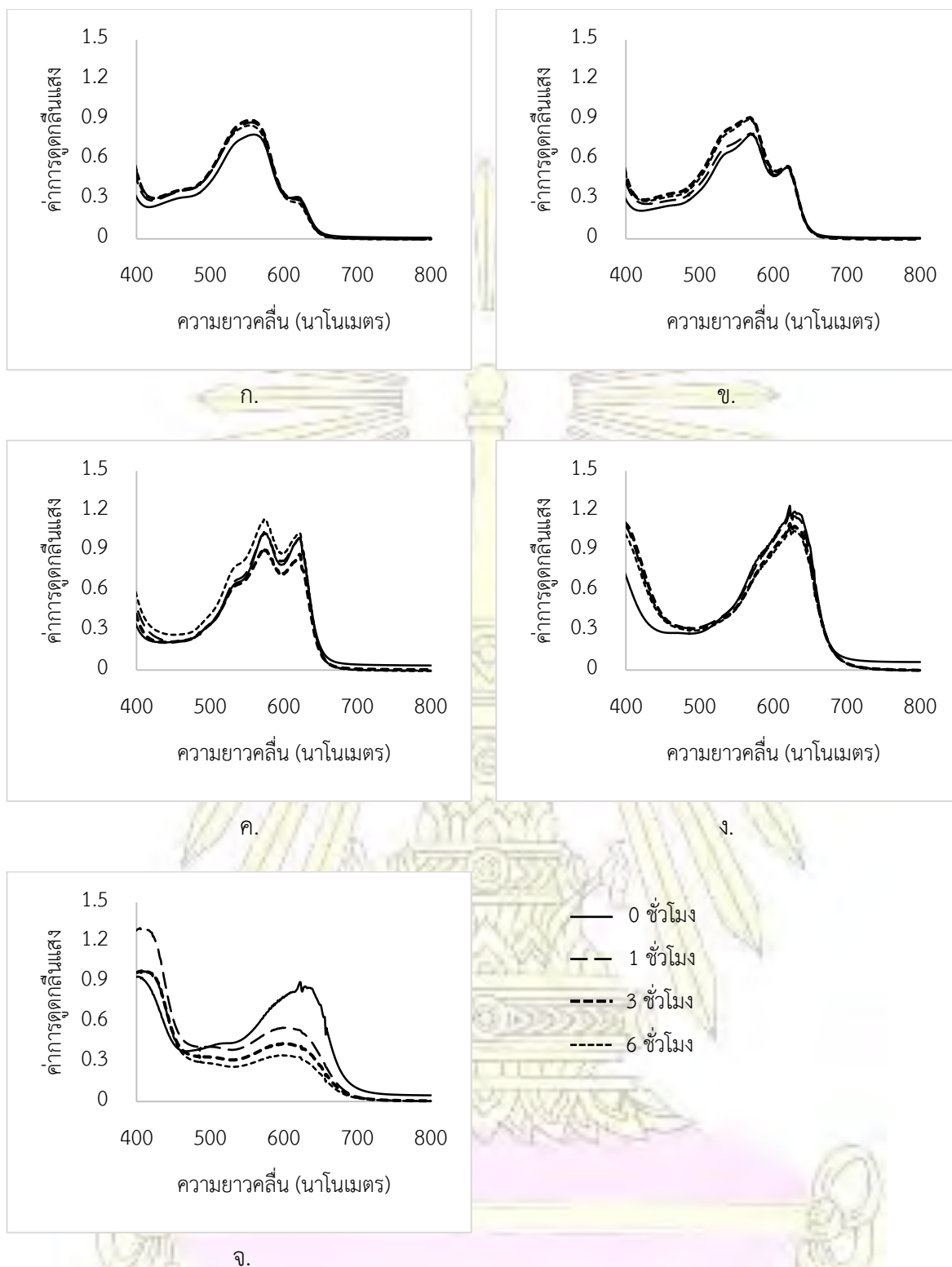


รูปที่ 3.9 สารละลาย ก. BPA_n และ ข. BPA_n-M เมื่อได้รับความร้อนเป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง

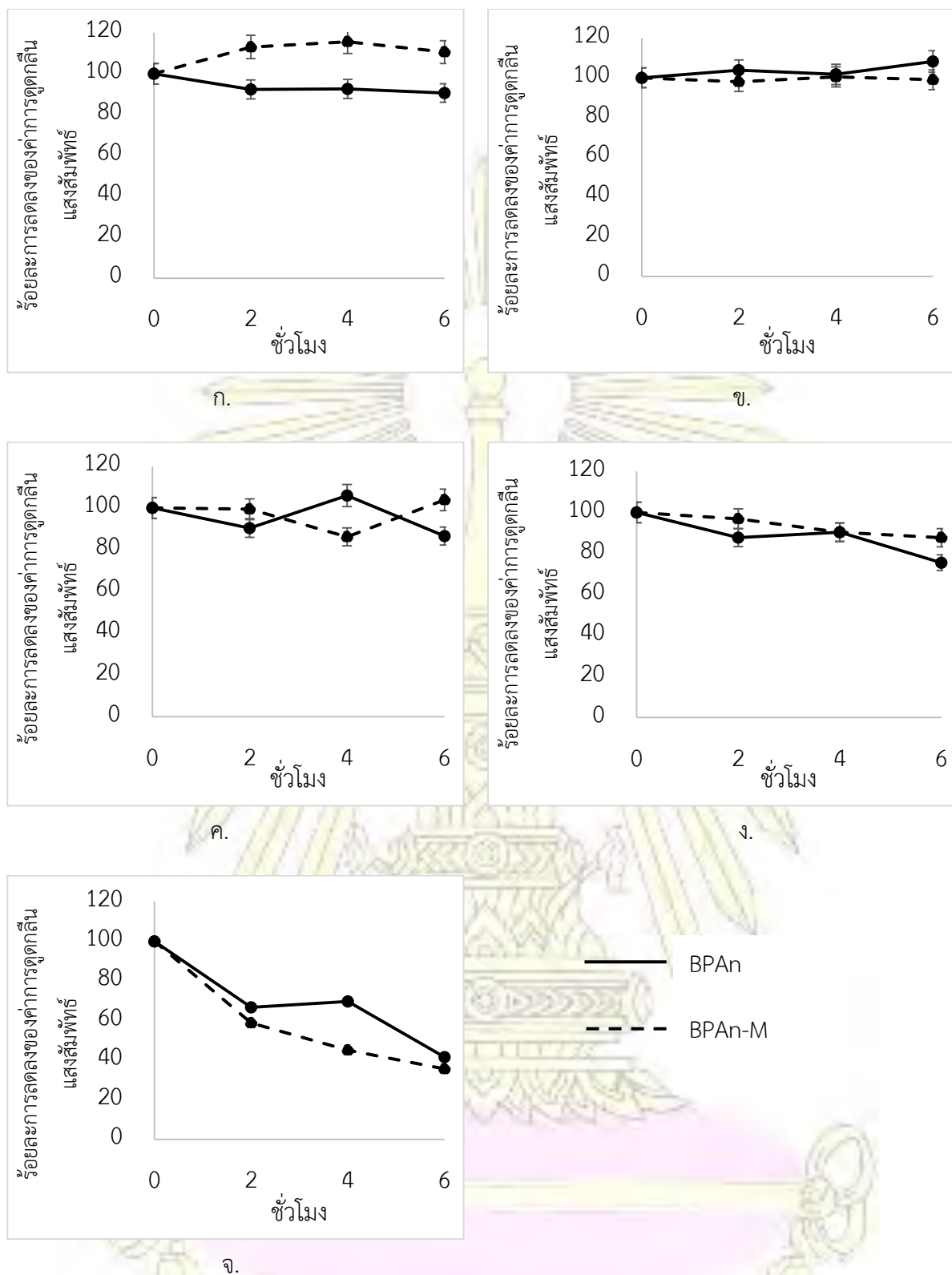
เมื่อเขียนกราฟระหว่างการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละ pH กับเวลา จะได้ดังรูปที่ 3.12 โดยพบว่าสารสกัด BPA_n และ BPA_n-M ที่ pH 2, 3 และ 5 มีการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงน้อยกว่า ที่ pH 7 และ 9 แสดงให้เห็นว่าความร้อนมีผลต่อความเสถียรของสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้เกิดการสลายพันธะไกลโคซิดิก ที่ตำแหน่งที่ 3 ทำให้แอนโทไซยานินสูญเสียน้ำตาล เปลี่ยนเป็นแอนโทไซยานิดิน และแอนโทไซยานิดินถูกทำลายโครงสร้างโดยทำให้เกิดการแตกของวงแหวนบริเวณ heterocyclic ring นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและเปลี่ยนแปลงสี โดยจะเกิดการแตกเป็นโมเลกุลที่เล็กลง ทำให้การคอนจูเกตของพันธะคู่ลดลง การดูดกลืนแสงเปลี่ยนไปจากเดิม (รูปที่ 1.6) และสารสกัดทั้งสองมีความเสถียรต่อความร้อนที่สภาวะกรดมากกว่าเบส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้า [25]



รูปที่ 3.10 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ BPA ที่ ก. pH 2 ข. pH 3 ค. pH 5 ง. pH 7 และ จ. pH 9 เมื่อได้รับความร้อนเป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง



รูปที่ 3.11 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของ BPAAn-M ที่ ก. pH 2 ข. pH 3 ค. pH 5 ง. pH 7 และ จ. pH 9 เมื่อได้รับความร้อนเป็นเวลา 0, 2, 4 และ 6 ชั่วโมง



รูปที่ 3.12 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดของสารละลาย BPA และ BPA-M ที่ ก.pH 2 (λ_{max} 548 nm) ข.pH 3 (λ_{max} 619 nm) ค.pH 5 (λ_{max} 619 nm) ง.pH 7 (λ_{max} 629 nm) และ จ.pH 9 (λ_{max} 629 nm) เมื่อได้รับความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส

3.4 ศึกษาการดูดซับสีแอนโทไซยานินจากอัญชันบนแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลส

































เตรียมแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่ต่างกัน 4 แบบ ได้แก่ แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลส (BC), แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยกรด (BC-Hy), แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่มีสารละลายแอลจินต (BC-Alg) และ แผ่นวุ้นมะพร้าวที่มีน้ำตาล (BC-sugar) จากนั้นนำไปแช่สารสกัดอัญชัน BPA_n และอบให้แห้ง ได้แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่มีแอนโทไซยานินสำหรับตรวจวัด pH ดังแสดงในตารางที่ 3.3 เห็นได้ว่าแผ่น BC-Alg มีการกระจายตัวของแอนโทไซยานินสม่ำเสมอทั่วทั้งแผ่น ส่วน BC แบบอื่นๆ มีการกระจายตัวของสีแอนโทไซยานินไม่สม่ำเสมอ บริเวณกลางแผ่นจางกว่าขอบ และ BC-Sugar จะเหนียวติดกับภาชนะที่อบ

เมื่อนำแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่มีแอนโทไซยานินไปจุ่มในสารละลาย pH 2, 3, 5, 7, 9 และ 11 ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.3 จะเห็นได้ว่าพบการเปลี่ยนแปลงของสีในบริเวณที่มีสีของแอนโทไซยานินที่ pH ต่างๆ เหมือนกัน โดยแผ่น BC-Alg จะมีการเปลี่ยนแปลงชัดเจนมากกว่าแบบอื่น

การที่ BC-Alg มีการกระจายตัวของสีแอนโทไซยานินดีกว่าแบบอื่น อาจเนื่องมาจากสายโซ่แอลจินตมีประจุลบของหมู่คาร์บอกซิเลตสามารถจับกับแอนโทไซยานินซึ่งมีประจุบวกได้ดี ดังนั้น BC-Alg จะใช้ในการทดลองอื่นๆ ต่อไป



ตารางที่ 3.3 แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่มีสีแอนโทไซยานินและตรวจวัดสารละลายที่ pH ต่าง ๆ

| แผ่นแบคทีเรีย เซลลูโลส | ลักษณะก่อนอบ | ลักษณะหลังอบ | สีหลังจากจุ่มสารละลาย ที่ pH 2, 3, 5, 7, 9 และ 11 |
|---------------------------|---|--|--|
| 1. BC |  |  | <p>pH 2 </p> <p>pH 3 </p> <p>pH 5 </p> <p>pH 7 </p> <p>pH 9 </p> <p>pH 11 </p> |
| 2. BC-Hy |  |  | <p>pH 2 </p> <p>pH 3 </p> <p>pH 5 </p> <p>pH 7 </p> <p>pH 9 </p> <p>pH 11 </p> |
| 3. BC-Alg |  |  | <p>pH 2 </p> <p>pH 3 </p> <p>pH 5 </p> <p>pH 7 </p> <p>pH 9 </p> <p>pH 11 </p> |
| 4. BC-Sugar |  |  | <p>pH 2 </p> <p>pH 3 </p> <p>pH 5 </p> <p>pH 7 </p> <p>pH 9 </p> <p>pH 11 </p> |

3.5 ศึกษาความเข้มข้นของแอนโทไซยานินบนแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสแอลจินตต่อการเปลี่ยนสีที่ pH ต่างๆ

ทำการศึกษเปรียบเทียบการเปลี่ยนสีของแผ่น BC-Alg เมื่อแช่ใน BPA_n ความเข้มข้น 2, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ pH 2, 3, 5, 7, 9 และ 11 เป็นเวลา 10 วินาที ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่มีสีของแอนโทไซยานินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

| ความเข้มข้นของ BPA _n (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) | ลักษณะก่อนอบ | ลักษณะหลังอบ | สีหลังจากจุ่มสารละลาย ที่ pH 2, 3, 5, 7, 9 และ 11 |
|---|--------------|--------------|--|
| 2 | | | <p>pH 2 </p> <p>pH 3 </p> <p>pH 5 </p> <p>pH 7 </p> <p>pH 9 </p> <p>pH 11 </p> |
| 5 | | | <p>pH 2 </p> <p>pH 3 </p> <p>pH 5 </p> <p>pH 7 </p> <p>pH 9 </p> <p>pH 11 </p> |
| 10 | | | <p>pH 2 </p> <p>pH 3 </p> <p>pH 5 </p> <p>pH 7 </p> <p>pH 9 </p> <p>pH 11 </p> |

จากผลการทดลอง พบว่าแผ่น BC-Alg มีปริมาณสีแอนโทไซยานินต่างกัน โดยแผ่นที่แช่ใน BPA_n ความเข้มข้นต่ำกว่าจะดูดซับสีได้น้อยกว่า และเมื่อนำไปจุ่มในสารละลาย pH 2, 3, 5, 7, 9 และ 11 พบว่าที่ pH 5 และ 7 สีบนแผ่น BC-Alg ที่มีแอนโทไซยานินทุกความเข้มข้นให้สีน้ำเงินเหมือนกัน แต่ที่ pH 9 สีบนแผ่น

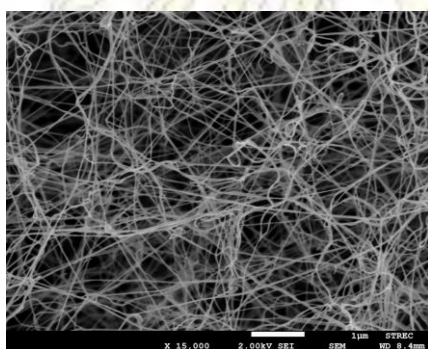
เซลลูโลสแชใน BPA_n ความเข้มข้น 2 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้สีฟ้าอมเขียวแตกต่างจากสีน้ำเงินที่ pH 5 และ 7 นอกจากนี้ที่ pH 3 แผ่นเซลลูโลสที่แชใน BPA_n ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้สีม่วงแตกต่างจากสีน้ำเงิน ที่ pH 5 และ 7

จากที่กล่าวมา แผ่น BC-Alg ที่แชใน BPA_n ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้สีที่แตกต่างกันเมื่อ pH ต่างกันได้ดีกว่าที่แชใน BPA_n ความเข้มข้น 2 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสังเกตด้วยตาเปล่า

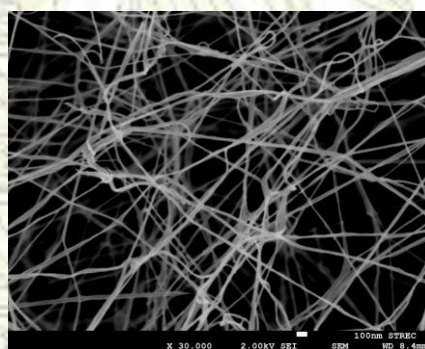
3.6 ศึกษาลักษณะทางกายภาพและเคมีของแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลส

3.6.1 ศึกษาลักษณะทางกายภาพด้วยเทคนิคอิเล็กตรอนแบบส่องกราดชนิดฟิลด์อีมิสชัน (FE-SEM)

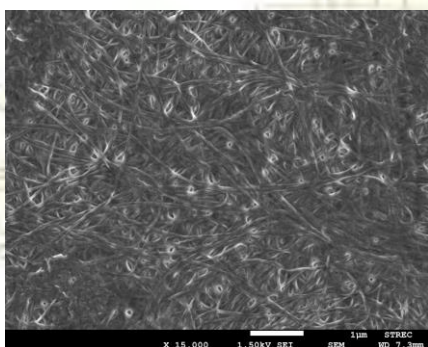
ภาพถ่ายแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลส (BC) ที่ทำให้แห้ง ณ จุดวิกฤต (critical point drying) พบว่าเส้นใยมีลักษณะเป็นโครงร่างแห ความหนาประมาณ 30 นาโนเมตร (รูปที่ 3.13ก. และ ข.) ส่วนภาพถ่ายแผ่น BC ที่ทำให้แห้งโดยการอบ (รูปที่ 3.13ค. และ ง.) เส้นใยสานเป็นร่างแห มีความหนาประมาณ 60 นาโนเมตร และมีช่องว่างระหว่างเส้นใยน้อยกว่าการทำให้แห้งด้วยวิธีทำให้แห้ง ณ จุดวิกฤต เนื่องมาจากการทำให้แห้ง ณ จุดวิกฤตสามารถคงรูปของเส้นใยไว้ได้ดีกว่าการอบ การทำให้แห้งโดยการอบในระหว่างที่น้ำระเหยออกไป จะเกิดการยุบตัวของโครงร่าง ทำให้เส้นใยอยู่ใกล้ชิดกันมากขึ้น ส่งผลให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างเส้นใยแข็งแรงมากขึ้น



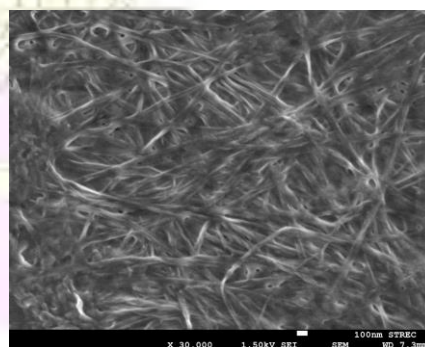
ก.



ข.



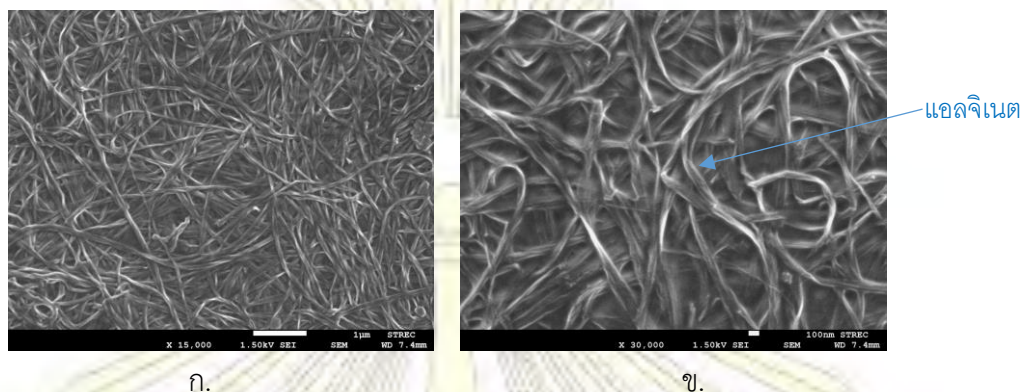
ค.



ง.

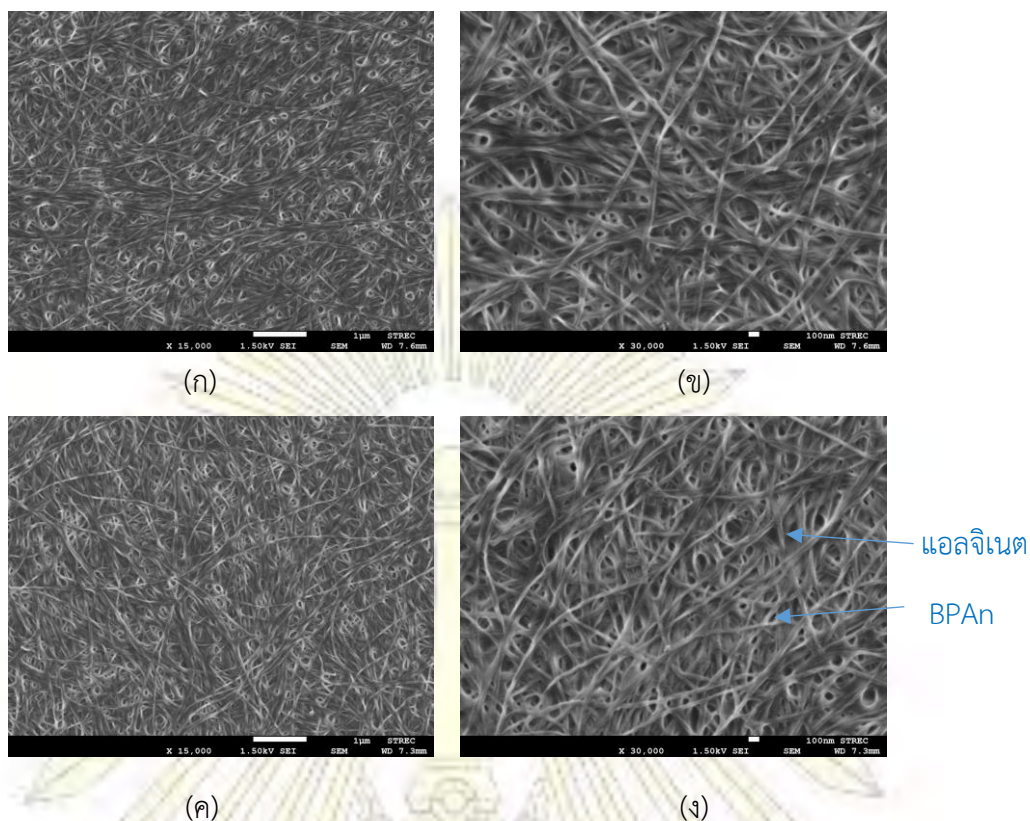
รูปที่ 3.13 ภาพถ่าย FE-SEM ของแผ่น BC ที่ทำให้แห้ง ณ จุดวิกฤต ก. กำลังขยาย 15,000 เท่า ข.กำลังขยาย 30,000 เท่า และแผ่น BC ทำให้แห้งด้วยการอบ ค. กำลังขยาย 15,000 เท่า ง. กำลังขยาย 30,000 เท่า

แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสแอลจิเนต (BC-Alg) ที่ทำให้แห้งโดยการอบ (รูปที่ 3.14) พบว่าเส้นใยเรียงตัวหนาแน่นและมีความหนาของเส้นใยประมาณ 100 นาโนเมตร ซึ่งมากกว่าแผ่น BC แสดงให้เห็นว่ามีแอลจิเนตเคลือบอยู่บนเส้นใย BC และแทรกตัวอยู่ระหว่างเส้นใย การที่แอลจิเนตสามารถเกาะบนเส้นใยได้ดี เนื่องจากการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของแอลจิเนตและเส้นใย BC



รูปที่ 3.14 ภาพถ่าย FE-SEM ของแผ่น BC-Alg ก. กำลังขยาย 15,000 เท่า ข. กำลังขยาย 30,000 เท่า

รูปที่ 3.15 เป็นภาพถ่าย FE-SEM ของแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสแอลจิเนตที่แช่ BPA_n (BC-Alg-BPA_n) และอบแห้งแล้ว พบว่าเส้นใยเรียงตัวไม่เป็นระเบียบมากขึ้น แต่มีความหนาลดลงเมื่อเทียบกับ BC-Alg นอกจากนี้พบรูกลมขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วไป คาดว่าอาจเกิดจากแอลจิเนตที่เดิมเคลือบอยู่บนเส้นใยละลายออกไปในน้ำขณะแช่ในสารละลายของ BPA_n ดังนั้นจึงควรปรับขั้นตอน โดยแช่แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสครั้งเดียวในสารละลายผสมของสารสกัดและแอลจิเนต

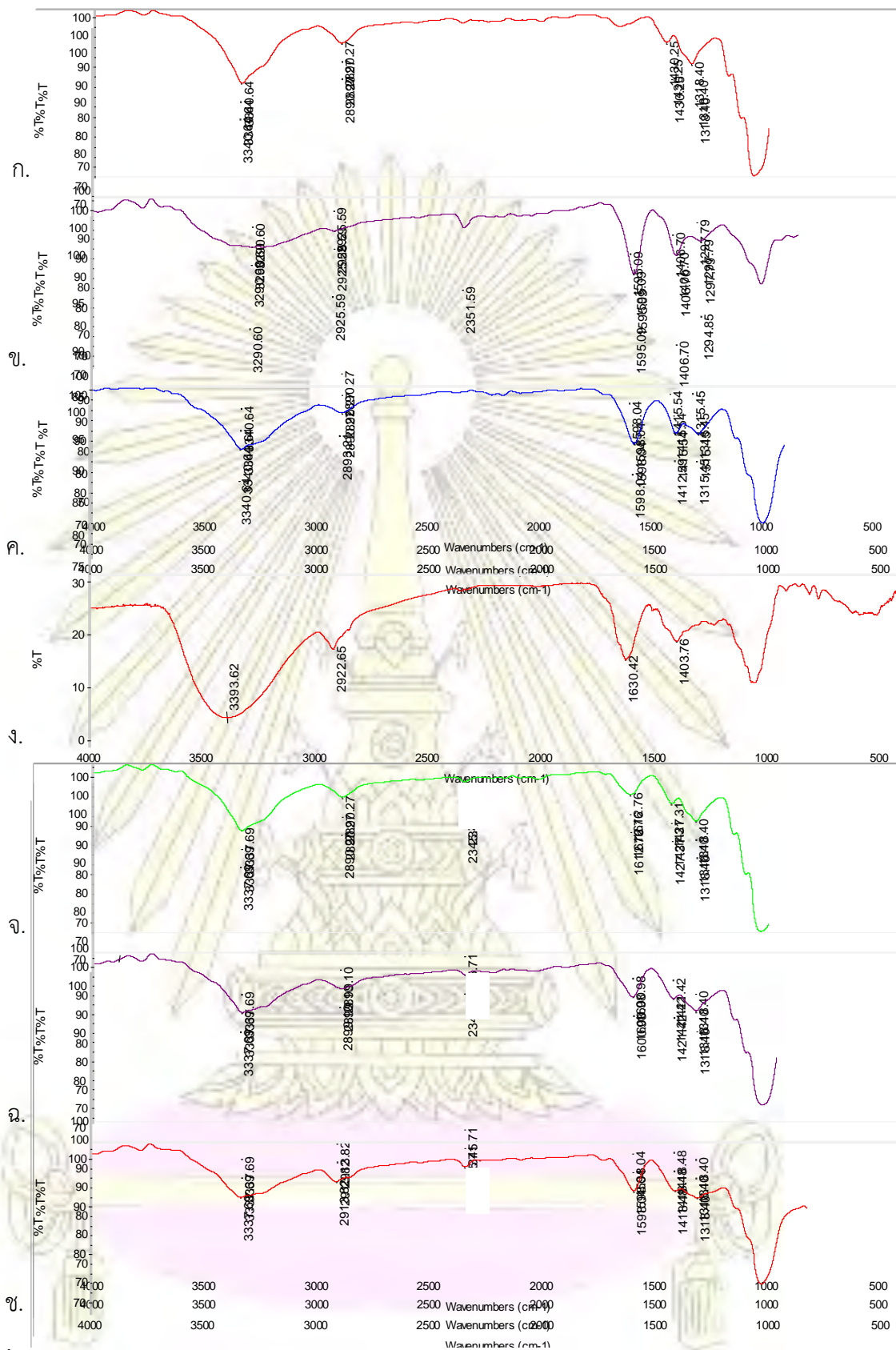


รูปที่ 3.15 ภาพถ่าย FE-SEM ของแผ่น BC-Alg-BPAn ที่แช่ BPAn ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ก) กำลังขยาย 15,000 เท่า (ข) กำลังขยาย 30,000 เท่า และ BPAn ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ค) กำลังขยาย 15,000 เท่า (ง) กำลังขยาย 30,000 เท่า

3.6.2 ศึกษาลักษณะทางเคมีด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลส (BC) พบพีกกว้างของการสั่นแบบยืดของ O-H ที่ 3340 ต่อเซนติเมตร (รูปที่ 13.16ก) แอลจิเนตพบพีกกว้างของการสั่นแบบยืดของ O-H ที่ 3290 ต่อเซนติเมตร และพีกของการสั่นแบบยืดของ C=O (หมู่คาร์บอกซิเลต) ที่ 1595 ต่อเซนติเมตร (รูปที่ 13.16ข) แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสแอลจิเนต (BC-Alg) พบพีกสำคัญของทั้ง BC และแอลจิเนต โดยพบว่าพีกของการสั่นแบบยืดของ C=O มีการย้ายตำแหน่งไปที่ 1598 ต่อเซนติเมตร (รูปที่ 13.16ค) แสดงว่าแอลจิเนตและ BC เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างกัน

สารสกัด BPAn พบพีกการสั่นแบบยืดของ O-H ที่ 3393 ต่อเซนติเมตร พีกการสั่นแบบยืดของ $-CH_2-$ ที่ 2925 ต่อเซนติเมตร พีกการสั่นแบบยืดของ C=C ที่ 1630 ต่อเซนติเมตร (รูปที่ 3.16ง) BC-Alg-BPAn พบพีกสำคัญของสารสกัด BPAn คือพีกการสั่นของ $-CH_2-$ และ C=C เป็นการยืนยันว่ามีแอนโทไซยานินอยู่จริง (รูปที่ 13.16จ-ข) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อสารสกัดมากขึ้น พีก C=C มีค่าเลขคลื่นลดลง



รูปที่ 3.16 สเปกตรัม FTIR ของ ก. BC ข. แอลจีเนต ค. BC-Alg ง. BPA และ BC-Alg-BPA ที่ความเข้มข้นของสารสกัด BPA เท่ากับ จ. 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ฉ. 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ ช. 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

บทที่ 4

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผลการทดลอง

สารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกอัญชันด้วยเมทานอล (BPA_n) มีสีน้ำเงินเข้ม และสารสกัดนี้เมื่อผ่านคอลัมน์ Diaion HP20 ที่ชะด้วยเมทานอล (BPA_n-Me) พบว่ามีความเข้มข้นของแอนโทไซยานินมากขึ้น 2.7 เท่า สารสกัดทั้งสองให้สีและการดูดกลืนแสงในช่วง pH 1-14 เหมือนกัน นอกจากนี้แสงและความร้อนมีผลต่อความเสถียรของสีสารสกัด และสารสกัดทั้งสองมีสีที่เสถียรต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสในสภาวะกรดมากกว่าสภาวะเบส

แผ่นตรวจวัด pH จากแบคทีเรียเซลลูโลสและแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน 4 แบบ คือ แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลส (BC), แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่ผ่านการไฮโดรไลซิสด้วยกรด (BC-Hy), แผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสที่มีสารละลายแอลจินต (BC-Alg) และ แผ่นวุ้นมะพร้าวที่มีน้ำตาล (BC-sugar) จากนั้นนำไปแช่สารสกัดอัญชัน BPA_n และอบให้แห้ง พบว่า BC-Alg มีการกระจายตัวของแอนโทไซยานินสม่ำเสมอทั่วทั้งแผ่นดีกว่าแบบอื่น และความเข้มข้นของสารสกัด BPA_n ที่ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงสีที่แต่ละ pH ต่างกันชัดเจนที่สุดเมื่อมองด้วยตาเปล่า นอกจากนี้ได้ศึกษาลักษณะทางกายภาพของแผ่น BC-Alg-BPA_n ด้วยเทคนิค FE-SEM พบว่าแอลจินต และ BPA_n เข้าไปแทรกตัวระหว่างโพรงของเส้นใยแบคทีเรียเซลลูโลส และจากการศึกษาลักษณะทางเคมีด้วยเทคนิค FTIR ยืนยันการพบแอนโทไซยานินบนแผ่น BC-Alg นอกจากนี้ยังพบอันตรกิริยาเคมีระหว่าง BC แอลจินต และแอนโทไซยานิน

4.2 ข้อเสนอแนะ

- เตรียมแผ่นตรวจวัดพีเอชจากเซลลูโลส โดยการแช่แอลจินตและสารสกัดอัญชันพร้อมกัน
- ศึกษาเปรียบเทียบการทำแผ่นตรวจวัดพีเอชจากเซลลูโลสให้แห้งด้วยวิธีการอบและวิธีการอื่น
- ทดสอบสารละลายเพื่อทดสอบการเปลี่ยนสีบนแผ่นอินดิเคเตอร์ แทนการแช่ในสารละลาย pH ต่างๆ

บรรณานุกรม

- [1] Dobrucka, R.; Cierpiszewski, R. Active and Intelligent Packaging Food – Research and Development – A Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. **2014**, *64*, 7–15.
- [2] Kuswandi B.; Wicaksono Y.; Jayus; Abdullah A.; Heng L. Y.; Musa Ahmad M. Smart Packaging: Sensors for Monitoring of Food Quality and Safety. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*. **2011**, *5*, 137–146.
- [3] Zajko, S.; Klimant, I. The Effects of Different Sterilization Procedures on the Optical Polymer Oxygen Sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*. **2013**, *177*, 86–93.
- [4] Morsy, M. K.; Zór, K.; Kostesha, N.; Alstrom, T. S.; Heiskanen, A.; El-Tanahi, H.; Sharoba, A.; Papkovsky, D.; Larsen, J.; Khalaf, H.; Jakobsen, M. H.; Emneus, J. Development and Validation of a Colorimetric Sensor Array for Fish Spoilage Monitoring. *Food Control*. **2016**, *60*, 346–352.
- [5] Golasz, L. B.; Silva, J. D.; Silva, S. B. D. Film with Anthocyanins as an Indicator of Chilled Pork Deterioration. *Food Science and Technology (Campinas)*. **2013**, *33*, 155–162.
- [6] Yoshida, C. M. P.; Maciel V. B. V.; Mendonça M. E. D.; Franco, T. T. Chitosan Biobased and Intelligent Films: Monitoring pH Variations. *LWT - Food Science and Technology*. **2014**, *55*, 83–89.
- [7] Castañeda-Ovando, A.; Pacheco-Hernandez, M. L.; Paez-Hernandez, M. E.; Rodriguez, J. A.; & Galan-Vidal, C. A. Chemical Studies of Anthocyanins: A Review. *Food Chemistry*. **2009**, *113*, 859–871.
- [8] Pourjavaher, S.; Almasi H.; Meshkinia, S.; Pirsab, S.; Parandica E. Development of a Colorimetric pH Indicator Based on Bacterial Cellulose Nanofibers and Red Cabbage (*Brassica oleraceae*) Extract. *Carbohydrate Polymers*. **2017**, *56*, 193–201.
- [9] Rukchon, C.; Nopwinyuwong, A.; Trevanich, S.; Jinkarn, T.; Suppakul, P. Development of a Food Spoilage Indicator for Monitoring Freshness of Skinless Chicken Breast. *Talanta*. **2014**, *130*, 547–554.
- [10] Esa, F.; Tasirin, S. M.; Rahman, N. A. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. **2014**, *2*, 113–119.

- [11] เหมือนขวัญ กงนอก. การใช้วิธีโคพิกเมนต์เพซินเพื่อเพิ่มความคงตัวของรงควัตถุจากกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยศิลปากร, **2556**.
- [12] Cavalcant, R. N., Santos, D. T. and Meireles, M. A. 2011. Non-thermal Stabilization Mechanisms of Anthocyanins in Model and Food Systems- an Overview. *Food Research International*. **2011**, *44*, 499–509.
- [13] Glover, B. J.; Martin, C. Anthocyanins. *Current Biology*. **2012**, *22*, 147–150.
- [14] Rein, M. J. Copigmentation Reactions and Color Stability of Berry Anthocyanins. Dissertation. Department of Applied Chemistry and Microbiology. University of Helsinki. **2015**.
- [15] Mazza, G.J.; Brouillard, R. Color Stability and Structural Transformations of Cyanidin 3,5-diglycoside and Four 3-deoxyanthocyanins in Aqueous Solutions. *J. Agric. food Chem.* **1987**, *35*, 422–426.
- [16] Pereira Jr, V. A.; Queiroz de Arruda I. N.; Stefani R. Active Chitosan/PVA Films with Anthocyanins from *Brassica oleraceae* (Red Cabbage) as Time-Temperature Indicators for Application in Intelligent Food Packaging. *Food Hydrocolloids*. **2015**, *43*, 180–188.
- [17] Patras, A.; Brunton, N. P.; Donnell, C. O.; Tiwari, B.K. Effect of Thermal Processing on Anthocyanin Stability in Foods; Mechanisms and Kinetics of Degradation. *Journal of Trends in Food Science & Technology*. **2010**, *21*, 3–11.
- [18] Song, B. J.; Sapper, T. N.; Burtch, C. E.; Brimmer, K.; Goldschmidt, M.; Ferruzzi, M. G. Photo- and Thermodegradation of Anthocyanins from Grape and Purple Sweet Potato in Model Beverage Systems. *Journal Agricultural Food Chemistry*. **2013**, *61*, 1364–1372.
- [19] Chu, B.; Wilkin, J. D.; House, M.; Roleska, M.; Lemos, A. M. Effect of Sucrose on Thermal and pH Stability of *Clitoria ternatea* Extract. *International Journal of Food Processing Technology*. **2016**, *3*, 11–17.
- [20] Kungsuwan, K.; Singh, K.; Phetkao, S.; Utama-ang, N. Effects of pH and Anthocyanin Concentration on Color and Antioxidant Activity of *Clitoria ternatea* Extract. *Food and Applied Bioscience*. **2014**, *2(1)*, 31–46.

- [21] Terahara, N.; Matsui, T.; Osajima, T.; Saito, N.; Toki, K.; Honda, T. Five New Anthocyanins Ternatin A3 B4 B3 B2 and D2 from *Clitoria ternatea* Flowers. *National production*. **1996**, *59*, 139–144.
- [22] Terahara, N.; Saito, N.; Honda, T.; Toki, K.; Osajima, Y. Aclated Anthocyanins of *Clitoria ternatea* Flowers and Their Acyl Moieties. *Phytochemistry*. **1990**, *29*, 949–953.
- [23] Nikijuluw, C. Color Characteristic of Butterfly Pea (*Clitoria ternatea* L.) Anthocyanin Extracts and Brilliant Blue. Dissertation, Department of Food Science and Technology. Bogor Agricultural University, **2013**.
- [24] Saptarini, M. N.; Suryasaputra, D.; Nurmalia, H. Application of Butterfly Pea (*Clitoria ternatea* Linn) Extract as an Indicator of Acid-base Titration. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. **2015**, *7(2)*, 275–280.
- [25] Chaovanalikit, A.; Apichayaluk, S.; Kongtong, S.; Chuprathum, S. Effect of pH and Temperature on the Stability and Visual Color of Roselle and Butterfly Pea Extracts. *Journal of Agricultural Science*. **2009**, *40(3)*, 5–8.
- [26] Abdullah, R.; Lee P. M.; Hung L. K. Multiple Color and pH Stability of Floral Anthocyanin Extract: *Clitoria ternatea*. In *Science and Social Research*, Proceedings of the International conference on Science and Social Research, Kuala Lumpur, Malaysia, December 5-7, 2010.
- [27] Nugroho, D.A.; Aji, P. Characterization of Nata de Coco Produced by Fermentation of Immobilized *Acetobacter xylinum*. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. **2015**, *3*, 278–282.
- [28] Esa, F.; Tasirin, S. M.; Rahman, N. A. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. **2014**, *2*, 113–119.
- [29] Svensson, A.; Nicklasson, E.; Haraha, T.; Panilaitisa, B.; D.L. Kaplana, D.L.; Brittberg, M.; Gatenholmb, P. Bacterial Cellulose as a Potential Scaffold for Tissue Engineering of Cartilage. *Biomaterials*. **2005**, *26*, 419–431.
- [30] Chen, S.; Zou, Y.; Yan, Z.; Shen, W.; Shi, S.; Zhang, X.; Wang, H. Carboxymethylated-bacterial Cellulose for Copper and Lead Ion Removal. *Journal of Hazardous Materials*. **2009**, *161*, 1355–1359.

- [31] Fertah, M.; Belfkira, A.; Dahmane, E.; Taourirte, M.; Brouillette F. Extraction and Characterization of Sodium Alginate from Moroccan *Laminaria Digitata* Brown Seaweed. *Arabian Journal of Chemistry*. [Online early access]. DOI: 10.1016/j.arabjc.2014.05.003. Published Online: May 17, 2014. <http://www.sciencedirect.com> (accessed Feb 13, 2017)
- [32] Papageorgiou, S.; Kouvelos, E.; Katsaros F. Calcium Alginate Beads from *Laminaria digitata* for the Removal of Cu^{+2} and Cd^{+2} from Dilute Aqueous Metal Solutions. *Desalination*. **2008**, 224, 293–306.
- [33] Li, H.; Jiang F.; Ye, S.; Wu, Y.; Zhu, K.; Wang, D. Bioactive Apatite Incorporated Alginate Microspheres with Sustained Drug-delivery for Bone Regeneration Application. *Materials Science and Engineering C*. **2016**, 62, 779–786.
- [34] Vasile, F. E.; Romero, A. M.; Judis, M. A.; Mazzobre, M. F. *Prosopis alba* Exudate Gum as Excipient for Improving Fish Oil Stability in Alginate-chitosan Beads. *Food Chemistry*. **2016**, 190, 1093–1101.
- [35] Zhou, L. L.; Sun, D. P.; Hu L. Y.; Li, Y. W.; Yang, J. Z. Effect of Addition of Sodium Alginate on Bacterial Cellulose Production by *Acetobacter xylinum*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. **2007**, 34, 483–489.
- [36] Kanjanamosit, N.; Muangnapoh, C.; Phisalaphong, M. Biosynthesis and Characterization of Bacteria Cellulose-Alginate Film. *Journal of Applied Polymer Science*. **2010**, 115, 1581–1588.
- [37] Antti Sirvio, J. A.; Kolehmainen, A.; Liimatainen, H.; Niinimaki, J.; Hormi, O. E. Biocomposite Cellulose-alginate Films: Promising Packaging Materials. *Food Chemistry*. **2014**, 151, 343–351.

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวสิราวรรณ รุ่งเลิศสิทธิกุล เกิดเมื่อวันที่ 8 เดือนธันวาคม พ.ศ. 2537 ที่จังหวัดนครศรีธรรมราช สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนเบญจมราชูทิศ จังหวัดนครศรีธรรมราช เมื่อปีการศึกษา 2555 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2556 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 1202/7 ถนนบูรณาราม ตำบลคลัง อำเภอเมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช รหัสไปรษณีย์ 80000 อีเมล Sirawan_fuse@hotmail.com

