

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การสกัดและการประยุกต์ใช้ของสารประกอบแอนโทไซยานิน



ปพ.

๒176ก

๒539

เลขหน.....

เลขทะเบียน.....**32039**

วัน, เดือน, ปี.....**๘ ก.พ. 2542**

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Extraction and Application of Anthocyanin Compounds



A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the
Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Chemistry

Faculty of Science

King mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1996

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

โดย

ภาควิชา

อาจารย์ที่ปรึกษา

การสกัดและการประยุกต์ใช้ของสารประกอบแอนโทไซยานิน

นาย นพพร สงค์อ้อม

เคมี

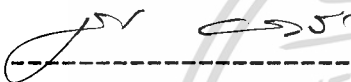
ดร. อรพรรณ ชัยลภากุล

อ. สุจินต์ ตันติพิสิษฐกุล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อนุมัติให้นำโครงการพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

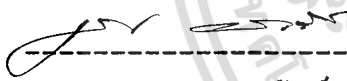
ลายเซ็นต์



(ผศ. นงนuch เกตรานูวัฒน์)


หัวหน้าภาควิชาเคมี

คณะกรรมการโครงการพิเศษ



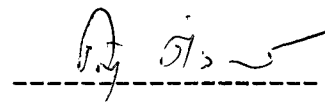
(ผศ. นงนuch เกตรานูวัฒน์)

ประธานกรรมการ



(ดร. ตะวัน สุขน้อย)

กรรมการ



(อ. คณิศา ตังคมานูรักษ์)

กรรมการ

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การสกัดและการประยุกต์ใช้ของสารประกอบแอนโทไซยานิน
นักศึกษา	นาย นพพร สงค์อิม
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. อรวรรณ ชัยลภากุล อ. สุจินต์ ดันติพิสิฐกุล
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2539

บทคัดย่อ

โครงการนี้สนใจศึกษาสารประกอบแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) จากกะหล่ำปลีสีม่วง (Red Cabbage :- *Brassica oleracea*) ใน 2 เรื่อง คือ ชนิดของกรดในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดแบบแห้งหักต่อกระบวนการขจัดหมู่เอซิล (Deacylation) ของสารที่สกัดได้ และความเป็นไปได้ในการนำสารที่สกัดได้โดยใช้ตัวทำละลายที่มีสภาพเป็นกลางมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส

ในการศึกษาเรื่องแรกจะสกัดแอนโทไซยานินโดยแช่ในสารละลายกรดเข้มข้น 1 % ของกรดซิตริก (Citric acid) , กรดทาร์ทาริก (Tartaric Acid) , กรดไตรฟลูออโรแอซีติก (Trifluoroacetic acid) และกรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid) ในเมทานอลแล้วนำสารที่สกัดได้มาทำปฏิกิริยาแอลคาไลน์ไฮโดรลิซิส (Alkaline Hydrolysis) เพื่อประมาณการขจัดหมู่เอซิลในสารที่สกัดได้ ซึ่งจากผลที่ได้พบว่าการสกัดโดยใช้สารละลายกรดไตรฟลูออโรแอซีติกในเมทานอลจะเกิดขจัดหมู่เอซิลน้อยที่สุด

ในส่วนของการทดลองนำสารที่สกัดได้มาใช้เป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบสพบว่า สารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่นสามารถนำมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตสารละลายกรดแอซีติกด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้ผลถูกต้องดีกว่าการใช้ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein) , ไทมอลบลู (Thymol Blue) และบรอมไทมอลบลู (Bromthymol Blue) เป็นอินดิเคเตอร์

Special Project Title Extraction and Application of Anthocyanin
 Compounds
Name Noppom Song-im
Special Project Advisor Dr. Orawan Chailapakul
 Ms. Sujin Tantipisitkul
Department Chemistry
Academic Year 1996

Abstract

Anthocyanin from red cabbage :- *Brassica oleracea* has been chosen to study in two categories. One is the use alkaline hydrolysis to estimate deacylation of crude extract from 1% solution of citric acid , tartaric acid , trifluoroacetic acid and hydrochloric acid in methanol. It was found that minimum deacylation can be obtained from the extract when using 1% solution of trifluoroacetic acid in methanol as solvent.

The other is the use anthocyanin which extracted by neutral solvent as acid-base indicator. It was found that in the titration of acetic acid with sodium hydroxide, Anthocyanin which extract by distilled water shows relatively small percent Titration error, compared to Phenolphthalein , Thymol blue and Bromthymol blue.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเรื่องการสกัดและการประยุกต์ใช้ของสารประกอบแอนโทไซยานินสำเร็จรูปได้สำเร็จได้ด้วยดีเนื่องจากความอนุเคราะห์ช่วยเหลือของผู้มีพระคุณหลายท่านดังมีรายนามดังต่อไปนี้

ท่านอาจารย์อรรณพและอาจารย์สุจินต์ ซึ่งคอยช่วยเหลือทุกด้านทั้งตอบคำถามข้อสงสัย เสนอแนะแนวทาง และที่สำคัญคือ ให้ทำโครงการพิเศษอย่างเสรี ให้ได้เผชิญหน้ากับปัญหาด้วยตนเอง ทำให้ทราบและเข้าใจในสิ่งต่าง ๆ ได้ดีขึ้น

ท่านอาจารย์นงนุช อาจารย์ตะวัน และอาจารย์คณิตา คณะกรรมการตรวจสอบโครงการพิเศษนี้ ซึ่งต้องขอขอบพระคุณที่ท่านอาจารย์ทั้งสามสละเวลาตรวจสอบแก้ไข อีกทั้งยังช่วยตอบคำถาม ข้อสงสัย เสนอแนะแนวทางการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นตลอดการทำโครงการพิเศษนี้

เพื่อน ๆ ทั้งในอดีตและปัจจุบันทุกคนรวมไปถึงน้อง ๆ ทุกชั้นปีที่คอยให้กำลังใจเสมอมาตลอดการทำโครงการพิเศษ

ท่านอาจารย์พรชัย พ่อคนที่ 2 ผู้ที่คอยให้กำลังใจและเป็นห่วงและคอยกำลังใจเสมอ พ่อ แม่ คุณตา คุณยาย ที่มักถามไถ่ เป็นห่วง ดูแลและคอยให้กำลังใจเสมอ น้ำเต้า และเจ้าหน้าที่ฝ่ายเทคนิคทุกคนที่ช่วยให้ข้อมูลเกี่ยวกับสีผสมอาหาร รวมถึงหาตัวแทนจำหน่ายของบริษัท San-Ei Chemical Industries , Ltd. ในประเทศไทย

อาจารย์ในภาคเคมีทุกท่านที่เป็นห่วงคอยถามถึงอยู่เสมอ ๆ

ท่านอาจารย์ณัฐา ท่านอาจารย์สุมาลี และท่านอาจารย์เพียงใจ ที่ช่วยประสิทธิ์ประสาทพื้นฐานวิชาเคมีมาตั้งแต่สมัยมัธยมปลาย

เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีชั้น 5 คณะวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีชั้น 4 ตึกพระเทพฯ ทุกคนที่ให้ความสะดวก เอื้อเฟื้อในการจัดหาอุปกรณ์ และการใช้เครื่องมือต่าง ๆ เป็นอย่างดีตลอดการทำโครงการนี้รวมถึงเจ้าหน้าที่ทำความสะอาดชั้น 5 ตึกคณะวิทยาศาสตร์ ที่ช่วยทำความสะอาดเช็ดโต๊ะและบริเวณที่ทำการทดลองให้สะอาดอยู่ตลอดเวลา

ท้ายสุดนี้คงจะขาดไม่ได้ คือ กำลังใจจากผู้เปรียบเสมือนพี่ชายและเพื่อนที่ดีที่สุดอีกคนหนึ่ง ซึ่งคาดว่าในส่วนลึกแล้วทั้งสองคนก็คอยส่งกำลังใจให้ทำโครงการนี้เสร็จลุล่วงไปด้วยดี

นพพร สงค์อ้อม

7 มีนาคม 2540

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ โครงการงานพิเศษภาษาไทย	ก
บทคัดย่อ โครงการงานพิเศษภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญรูป	ณ
คำอธิบายสัญลักษณ์และตัวย่อ	๗
บทที่ 1 บทนำ	1
○ วัตถุประสงค์ของ โครงการงานพิเศษ	2
○ ขอบเขตของการศึกษา	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง	3
○ ลักษณะ โครงสร้างของสารประกอบแอนโทไซยานิน	3
○ Acylated Anthocyanins	5
○ สารประกอบแอนโทไซยานิน ในกะหล่ำปลีสีม่วง	11
○ การสกัดสารประกอบแอนโทไซยานินออกจากวัสดูธรรมชาติ	12
○ ผลของความเป็นกรด-เบสต่อสีของสารประกอบแอนโทไซยานิน	16
บทที่ 3 การวิจัยและการดำเนินการ	21
○ สารเคมีและอุปกรณ์	21
- สารเคมีและวัสดูธรรมชาติ	21
- อุปกรณ์และเครื่องมือ	22
○ ขั้นตอนการดำเนินการ	23
- การศึกษาการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ทำให้เกิดกระบวนการขจัดหมู่ เอซิลน้อยที่สุด	23
- การประยุกต์ใช้สารประกอบแอนโทไซยานินเป็นอินดิเคเตอร์ กรด-เบส	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	33
○ การศึกษาการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ทำให้เกิดกระบวนการขจัดหมู่เอซิดน้อยที่สุด	33
- ผลการทดสอบชนิดของแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัด	33
- ผลการทดลองนำสารที่สกัดได้มาทำการขจัดหมู่เอซิด	34
○ การประยุกต์ใช้สารประกอบแอนโทไซยานินเป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส	35
- ผลการศึกษาช่วงการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง	35
- ผลการนำแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงมาประยุกต์ใช้ในการไทเทรตกรด-เบสลักษณะต่าง ๆ	68
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษาวิจัยและข้อเสนอแนะ	76
○ สรุปผลและวิจารณ์ผลการนำสารที่สกัดได้มาทำการขจัดหมู่เอซิด	76
○ สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลองนำสารประกอบแอนโทไซยานินมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส	77
○ ข้อเสนอแนะ	79
ภาคผนวก	81
○ ภาคผนวก ก : รูปแสดงลักษณะของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นกรดและเป็นกลาง	82
○ ภาคผนวก ข : สเปกตรามของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นกรด	83
○ ภาคผนวก ค : สเปกตรามของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นกรดที่ผ่านการทำปฏิกิริยา Alkaline Hydrolysis	87
เอกสารอ้างอิง	95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงค่าแอมชอร์เบนซ์ของกรดพาราควมาริก จากการนำสารที่สกัดได้ในแต่ละตัวทำละลายมาทำการขจัดหมู่เอซิด	34
ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงค่าแอมชอร์เบนซ์ของกรดคัลเฟอิก จากการนำสารที่สกัดได้ในแต่ละตัวทำละลายมาทำการขจัดหมู่เอซิด	34
ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงค่าแอมชอร์เบนซ์ของกรดฟลูอริก จากการนำสารที่สกัดได้ในแต่ละตัวทำละลายมาทำการขจัดหมู่เอซิด	35
ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงค่าแอมชอร์เบนซ์ของกรดซึนาปิก จากการนำสารที่สกัดได้ในแต่ละตัวทำละลายมาทำการขจัดหมู่เอซิด	35
ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงสีของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้น 60 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 13 พร้อมข้อมูลสเปกตรา	37
ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงสีของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้ของผสมเมทานอลกับโคเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1 : 1 ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 13 พร้อมข้อมูลสเปกตรา	39
ตารางที่ 4.7 ตารางแสดงสีของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายกรดไทโรฟลูออโรเอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 13 พร้อมข้อมูลสเปกตรา	41
ตารางที่ 4.8 ตารางแสดงสีของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 4 M ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 13 พร้อมข้อมูลสเปกตรา	43
ตารางที่ 4.9 ตารางแสดงสีของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 13 พร้อมข้อมูลสเปกตรา	45
ตารางที่ 4.10 ตารางแสดงสีของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำกลั่นในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 13 พร้อมข้อมูลสเปกตรา	47
ตารางที่ 4.11 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชกับค่าแอมชอร์เบนซ์ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้น 60 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 8.1 ถึง 9.4	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ 4.12 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชกับค่าแอมซอร์เบนซ์ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้ของผสมเมทานอลกับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1 : 1 ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.8 ถึง 10.3	51
ตารางที่ 4.13 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชกับค่าแอมซอร์เบนซ์ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายกรดไทโรฟลูออโรแอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 9.5 ถึง 9.9	53
ตารางที่ 4.14 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชกับค่าแอมซอร์เบนซ์ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 4 M ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.8 ถึง 8.6	55
ตารางที่ 4.15 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชกับค่าแอมซอร์เบนซ์ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 2.8 ถึง 4.4	57
ตารางที่ 4.16 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชกับค่าแอมซอร์เบนซ์ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 6.1 ถึง 6.9	59
ตารางที่ 4.17 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชกับค่าแอมซอร์เบนซ์ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.6 ถึง 8.5	61
ตารางที่ 4.18 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชกับค่าแอมซอร์เบนซ์ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำกลั่นในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 3.1 ถึง 4.9	63
ตารางที่ 4.19 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชกับค่าแอมซอร์เบนซ์ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำกลั่นในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 6.9 ถึง 7.1	65
ตารางที่ 4.20 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอชกับค่าแอมซอร์เบนซ์ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำกลั่นในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.9 ถึง 9.5	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
<p>ตารางที่ 4.21 ตารางแสดงข้อมูลการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.11 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.13 M โดยใช้อินดิเคเตอร์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ และสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง</p>	69
<p>ตารางที่ 4.22 ตารางแสดงข้อมูลการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดแอสซิติคเข้มข้น 0.14 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.09 M โดยใช้อินดิเคเตอร์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ และสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง</p>	72
<p>ตารางที่ 4.23 ตารางแสดงข้อมูลการไทเทรตระหว่างสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0.15 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.11 M โดยใช้อินดิเคเตอร์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ และสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง</p>	74
<p>ตารางที่ 4.24 ตารางแสดงข้อมูลการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดแอสซิติคเข้มข้น 0.14 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0.18 M โดยใช้อินดิเคเตอร์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ และสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง</p>	75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 รูปแสดงโครงสร้างหลักของสารประกอบพลาโวนอยด์	3
รูปที่ 2.2 รูปแสดงโครงสร้างของ Flavylium cation	3
รูปที่ 2.3 รูปแสดงแอนโทไซยานินที่เป็น Aglycone ของแอนโทไซยานินที่พบ บ่อยในธรรมชาติ	4
รูปที่ 2.4 รูปแสดงโครงสร้างของ Ternatin A1 ที่สกัดได้จากดอกอัญชัน	6
รูปที่ 2.5 รูปแสดงโครงสร้างของ Cinerarin ที่สกัดได้จาก Garden Cineraria	7
รูปที่ 2.6 รูปแสดงโครงสร้างของ Monardaenin ที่สกัดได้จาก Golden Balm	8
รูปที่ 2.7 รูปแสดงโครงสร้างของ Platyconin ที่สกัดได้จาก Chinese Bellflower	8
รูปที่ 2.8 รูปแสดงโครงสร้างของ Zebrinin ที่สกัดได้จาก <i>Zebrina pendula</i>	8/1
รูปที่ 2.9 กราฟแสดงปริมาณการคงอยู่ของแอนโทไซยานินชนิดแอนซีเลดที่สกัดได้ จากดอกมอร์นิงกลอรี (Morning glory) , สารที่สกัดจากดอกมอร์นิงกลอรี ที่ถูกขจัดหมู่เอซิด , Cyanidin-3-Glucoside และ Encyanin เทียบกับเวลา	9
รูปที่ 2.10 รูปแสดงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานินในตัวอย่าง ที่เป็นน้ำ	16
รูปที่ 2.11 กราฟแสดงการกระจายของสปีชีส์ต่าง ๆ ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 0 ถึง 6 ของสารประกอบ Cyanidin -3,5-diglucoside	18
รูปที่ 2.12 รูปแสดงแบบจำลองการเกิด Stacking ของหมู่ Acyl ที่เป็น Caffeoyl 2 หมู่ กับ Pyrylium nucleus	18
รูปที่ 2.13 รูปแสดงกลไกของปฏิกิริยาไฮเดรชันของ Flavylium Cation ให้ผลิตภัณฑ์ เป็น Carbinol Base โดยเกิดผ่านรูป Protonated Carbinol	19
รูปที่ 2.13 รูปแสดงกลไกของปฏิกิริยาไฮเดรชันของ Flavylium Cation ให้ผลิตภัณฑ์ เป็น Carbinol Base โดยไม่มี Intermediate state	19
รูปที่ 4.1 ภาพแสดงผลการตรวจสอบแอนโทไซยานินชนิดแอนซีเลดจากสารที่สกัดได้	33
รูปที่ 4.2 รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเมทานอล เข้มข้น 60 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1.1 ถึง 6.3	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.3 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเมทานอล เข้มข้น 60 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.3 ถึง 13.6	37
รูปที่ 4.4 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้ของผสมเมทานอลกับ ไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1 : 1 ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1.1 ถึง 6.5	38
รูปที่ 4.5 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้ของผสมเมทานอลกับ ไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1 : 1 ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.5 ถึง 13.7	38
รูปที่ 4.6 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายกรดไทรฟลูอโร ออโรเอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 0.9 ถึง 6.1	39
รูปที่ 4.7 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายกรดไทรฟลูอโร ออโรเอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.2 ถึง 9.5	40
รูปที่ 4.8 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายกรดไทรฟลูอโร ออโรเอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 10 ถึง 13.6	40
รูปที่ 4.9 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้น 4 M ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 0.9 ถึง 5.6	41
รูปที่ 4.10 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้น 4 M ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 6.7 ถึง 10.5	42
รูปที่ 4.11 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้น 4 M ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 10.5 ถึง 13.6	42
รูปที่ 4.12 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอล เข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1.1 ถึง 7.4	44
รูปที่ 4.13 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอล เข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 8.4 ถึง 13.7	44
รูปที่ 4.14 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงค่าพีเอช ตั้งแต่ 1.1 ถึง 5.2	45
รูปที่ 4.15 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงค่าพีเอช ตั้งแต่ 7.2 ถึง 9.5	46
รูปที่ 4.16 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงค่าพีเอช ตั้งแต่ 9.5 ถึง 13.6	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.17 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้น 60 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.7 ถึง 10.2	48
รูปที่ 4.18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_p)/(A_s-A)]$ กับ pH ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้น 60 % ในช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินไปเป็นเขียว	49
รูปที่ 4.19 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้ของผสมเมทานอลกับไดเอทิลอีเทอร์อัตราส่วน 1 : 1 ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.4 ถึง 10.6	50
รูปที่ 4.20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_p)/(A_s-A)]$ กับ pH ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้ของผสมเมทานอลกับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1 : 1 ในช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินไปเป็นเขียว	51
รูปที่ 4.21 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายกรดไทรฟลูออโรแอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 8.4 ถึง 11.5	52
รูปที่ 4.22 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_p)/(A_s-A)]$ กับ pH ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายกรดไทรฟลูออโรแอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินไปเป็นเขียว	53
รูปที่ 4.23 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.4 ถึง 9.2	54
รูปที่ 4.24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_p)/(A_s-A)]$ กับ pH ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 4 M ในช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินไปเป็นเขียว	55
รูปที่ 4.25 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1.2 ถึง 4.4	56
รูปที่ 4.26 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_p)/(A_s-A)]$ กับ pH ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงการเปลี่ยนสีจากชมพูไปเป็นม่วง	57
รูปที่ 4.27 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 6.0 ถึง 7.0	58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.28 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_p)/(A_p-A)]$ กับ pH ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงการเปลี่ยนสีจากม่วงไปเป็นน้ำเงิน	59
รูปที่ 4.29 รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.3 ถึง 9.1	60
รูปที่ 4.30 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_p)/(A_p-A)]$ กับ pH ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินไปเป็นเขียว	61
รูปที่ 4.31 รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำกลั่นในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1.0 ถึง 5.2	62
รูปที่ 4.32 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_p)/(A_p-A)]$ กับ pH ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำกลั่นในช่วงการเปลี่ยนสีจากชมพูไปเป็นม่วง	63
รูปที่ 4.33 รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำกลั่นในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 6.7 ถึง 7.6	64
รูปที่ 4.34 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_p)/(A_p-A)]$ กับ pH ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำกลั่นในช่วงการเปลี่ยนสีจากม่วงไปเป็นน้ำเงิน	65
รูปที่ 4.35 รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำกลั่นในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.5 ถึง 9.8	66
รูปที่ 4.36 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_p)/(A_p-A)]$ กับ pH ของสารที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำกลั่นในช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินไปเป็นเขียว	67
รูปที่ 4.37 กราฟการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.11 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.13 M	68
รูปที่ 4.38 กราฟอนุพันธ์ครั้งที่ 2 ของการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.11 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.13 M	69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.39 กราฟการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดแอสติกเข้มข้น 0.14 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.09 M	70
รูปที่ 4.40 กราฟอนุพันธ์ครั้งที่ 2 ของการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดแอสติก เข้มข้น 0.14 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.09 M	71
รูปที่ 4.41 กราฟการไทเทรตระหว่างสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0.15 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.11 M	72
รูปที่ 4.42 กราฟอนุพันธ์ครั้งที่ 2 ของการไทเทรตระหว่างสารละลายแอมโมเนีย เข้มข้น 0.15 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.11 M	73
รูปที่ 4.43 กราฟการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดแอสติกเข้มข้น 0.14 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0.18 M	74
รูปที่ 4.43 กราฟอนุพันธ์ครั้งที่ 2 ของการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดแอสติก เข้มข้น 0.14 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0.18 M	75

คำอธิบายสัญลักษณ์และตัวย่อที่ใช้

φφ	= ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)
TB	= ไทมอลบลู (Thymol Blue)
BB	= บรอมไทมอลบลู (Bromthymol Blue).
BP	= บรอมฟีนอลบลู (Bromphynol Blue)
MR	= เมทิลเรด (Methyl Red)
BC	= บรอมครีซอลกรีน (Bromcresol Green)
Ex-EtOH	= สารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง โดยใช้สารละลายเอทานอล เข้มข้น 50 %
Ex-H ₂ O	= สารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง โดยใช้น้ำกลั่น
Cl	= ไม่มีสี (Colorless)
BG	= สีฟ้าอมเขียว (Greenish-Blue)
LB	= สีฟ้าใส (Light Blue)
P	= สีชมพู (Pink)
Y	= สีเหลือง (Yellow)
V	= สีม่วง (Violet)
LG	= สีเขียวอ่อน (Light Green)
B	= สีน้ำเงิน (Blue)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันสารที่ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติต่าง ๆ ได้รับความสนใจมากยิ่งขึ้นในการนำมาประยุกต์ใช้ด้านเภสัชกรรม การแพทย์และในด้านอุตสาหกรรมอาหาร แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) เป็นกลุ่มของสารที่ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติซึ่งได้รับความสนใจมากกว่า 50 ปี เนื่องจากคุณสมบัติที่เป็นสีจากธรรมชาติที่ละลายน้ำได้และการที่มีฤทธิ์ทางยาทำให้มีผู้ศึกษาสารชนิดนี้อย่างกว้างขวาง ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาหาความเป็นไปได้ในการนำมาใช้ทดแทนสีสังเคราะห์ การศึกษาหาแหล่งของสารประกอบชนิดนี้ที่ให้สีที่มีคุณภาพดีและมีเสถียรภาพดี การนำความรู้ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพและพันธุวิศวกรรมมาใช้ในการปรับปรุงสีของดอกไม้ต่าง ๆ การศึกษาเกี่ยวกับ Biosynthesis เพื่อหาวิธีในการทำให้พืชเกิดการสร้างแอนโทไซยานินขึ้นเพื่อช่วยเพิ่มความต้านทานโรค ฯลฯ อย่างไรก็ตามการนำแอนโทไซยานินจากธรรมชาติมาประยุกต์ใช้ยังไม่เป็นที่แพร่หลายสาเหตุสำคัญเนื่องจากสารที่ได้จากวัสดุธรรมชาติมีเสถียรภาพไม่ดี ทั้งตอนที่สกัดออกมาและขณะนำไปใช้งาน เพราะมีปัจจัยหลายอย่างที่เป็นตัวกำหนดเสถียรภาพของสารประกอบแอนโทไซยานิน ได้แก่ ค่าพีเอช อุณหภูมิ ออกซิเจนและเอนไซม์

อย่างไรก็ตามเสถียรภาพของแอนโทไซยานินสามารถปรับปรุงให้ดีขึ้นได้ซึ่งจากการศึกษาพบว่าเสถียรภาพของแอนโทไซยานินจะเพิ่มขึ้น โดยการมีโครงสร้างเป็นแบบแอซีเลต (acylated) การเกิด self-associated species และการเกิด co-pigmentation และจากเทคนิคทางสเปกโทรสโคปีและเทคนิคทางโครมาโตกราฟีพบว่า ในธรรมชาติมีแอนโทไซยานินชนิดแอซีเลตอยู่มาก ดังนั้นหากเราสามารถหาวิธีและระบบตัวทำละลายที่ไม่ทำลายโครงสร้างของสารในระหว่างการสกัดออกมาก็จะทำให้แอนโทไซยานินมีเสถียรภาพดีขึ้นเหมาะสมกับนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์อย่างเต็มที่

โดยปกติการสกัดแอนโทไซยานินจะใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกในเมทานอลเพื่อให้แอนโทไซยานินที่สกัดได้อยู่ในรูป Flavylium cation ที่เสถียร แต่เนื่องจากความแรงของกรดจะก่อให้เกิดการแตกสลายของโครงสร้างที่เป็นแอซีเลต ดังนั้นจึงมีการพัฒนาปรับปรุงตัวทำละลายที่ใช้สกัดมาทดแทนสารละลายของกรดไฮโดรคลอริกขึ้นมากมาย แต่ตัวทำละลายที่เลือกมาทำการศึกษาในโครงการพิเศษนี้จะให้ความสนใจระบบที่เป็นกรดอินทรีย์ในเมทานอล เพราะตัวทำละลายที่เหมาะสมควรจะไม่ทำลายหรือทำลายโครงสร้างของแอนโทไซยานินน้อยที่สุดและยัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้องสามารถปรับสภาพให้สารที่สกัดได้มีเสถียรภาพดีด้วย จึงจำเป็นต้องมีความเป็นกรดอยู่เพื่อช่วยทำให้แอนโทไซยานินอยู่ในรูป Flavylium cation ที่เสถียร

นอกจากในเรื่องเสถียรภาพของแอนโทไซยานินแล้วได้มีการศึกษากันพอสมควรในเรื่องการจัดเรียงตัวและลักษณะของแอนโทไซยานินที่อยู่ในเนื้อเยื่อ ซึ่งเป็นผลโดยตรงต่อสีของแอนโทไซยานิน จากการศึกษาพบว่าแอนโทไซยานินสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงสีได้ขึ้นกับโครงสร้าง ความเข้มข้น เม็ดสีชนิดอื่นที่เกิดร่วมกัน การเกิด copigment และปัจจัยสำคัญคือค่าพีเอช²⁴ ซึ่งเป็นจุดที่นำมาศึกษาในโครงการพิเศษนี้โดยศึกษาถึงการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินที่ค่าพีเอชต่าง ๆ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับแอนโทไซยานินชนิดแอซีเลต (Acylated anthocyanin) ที่สกัดได้จากธรรมชาติ เพราะส่วนใหญ่จะศึกษากันเฉพาะในแอนโทไซยานินที่สังเคราะห์ขึ้นซึ่งไม่ได้เป็นแบบแอซีเลตและมีพันธะไกลโคไซด์ (Glycoside) ดังเช่นที่ได้จากในธรรมชาติ อีกทั้งจะแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการนำแอนโทไซยานินที่ได้จากธรรมชาติไปประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส

แหล่งของแอนโทไซยานินที่เลือกใช้คือ กะหล่ำปลีสีม่วงเนื่องจากการศึกษาด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีและเทคนิคทางโครมาโทกราฟีที่ทันสมัยพบว่า แอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงส่วนใหญ่เป็นชนิดแอซีเลต อีกทั้งกะหล่ำปลีสีม่วงเป็นพืชที่หาได้ไม่ยากนักซึ่งจะไม่ทำให้ประสบปัญหาการขาดแคลนวัตถุดิบในระหว่างทำโครงการ

วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

1. เพื่อทำการศึกษาค้นคว้าในการหาตัวทำละลายที่เหมาะสม สำหรับการสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง โดยทำให้เกิดการขจัดหมู่เอซิลของสารที่สกัดน้อยที่สุด
2. เพื่อศึกษาทดลองนำแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง โดยใช้ตัวทำละลายที่มีสภาพเป็นกลาง มาใช้เป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบสและเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ที่ใช้กันอยู่ทั่วไป

ขอบเขตของการศึกษา

โครงการพิเศษนี้จะแบ่งการศึกษาเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกจะศึกษาหากรดอินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดที่จะทำลายโครงสร้างแบบแอซีเลตน้อยที่สุด โดยกรดที่ใช้มี 3 ชนิด คือ Citric acid , Tartaric acid และ Trifluoroacetic acid ทำการศึกษาเปรียบเทียบกับกรดไฮโดรคลอริก ส่วนที่สองจะทำการหาช่วงการเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้เปรียบเทียบกับการศึกษาที่มีมาแล้วโดยใช้สารสังเคราะห์ที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกับแอนโทไซยานิน และทดลองนำสารที่สกัดได้ซึ่งรู้ช่วงการเปลี่ยนสีแล้วมาใช้ในปฏิกิริยาการไทเทรตกรด-เบส

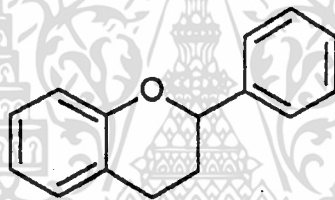
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะโครงสร้างของสารประกอบแอนโทไซยานิน

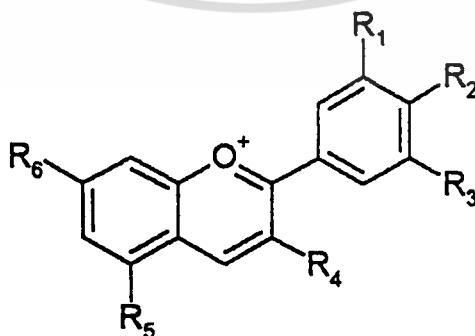
แอนโทไซยานิน (Anthocyanins) เป็นกลุ่มของสารซึ่งพบทั่วไปในพืชต่าง ๆ มากมายที่มีใบ ดอก ผล หรือส่วนต่าง ๆ ของพืชที่มีสีตั้งแต่ ชมพูแดง ม่วงแดงไปจนถึงสีน้ำเงิน โดยที่สารกลุ่มนี้ถูกจัดอยู่ในตระกูลของสารพวก Flavonoid เนื่องจากมีโครงสร้างหลักเป็น Flavan nucleus ต่ออยู่กับวงอะโรมาติก 2 วงเชื่อมกันโดย 3 Carbon unit ดังรูปที่ 2.1 และมีจุดเริ่มต้นของปฏิกิริยาการสังเคราะห์ทางชีวภาพเหมือนฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ตามธรรมชาติอื่น ๆ แต่แอนโทไซยานินมีความแตกต่างจากฟลาโวนอยด์ชนิดอื่น ๆ ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงวิสิเบิลได้เป็นอย่างดี



รูปที่ 2.1 รูปแสดงโครงสร้างหลักของสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์

ที่มา : เอกสารอ้างอิงหมายเลข 24 หน้า 13 (ไม่ได้ขออนุญาต)

แอนโทไซยานินนั้นเป็นพวก Glycoside ของ Anthocyanidin ซึ่ง Anthocyanidin นี้คืออนุพันธ์พวก Polyhydroxy และ Polymethoxy ของ 2-Phenylbenzopyrylium หรือที่มักเรียกกันทั่วไปว่า “Flavylium salts” มีลักษณะโครงสร้างดังรูปที่ 2.2

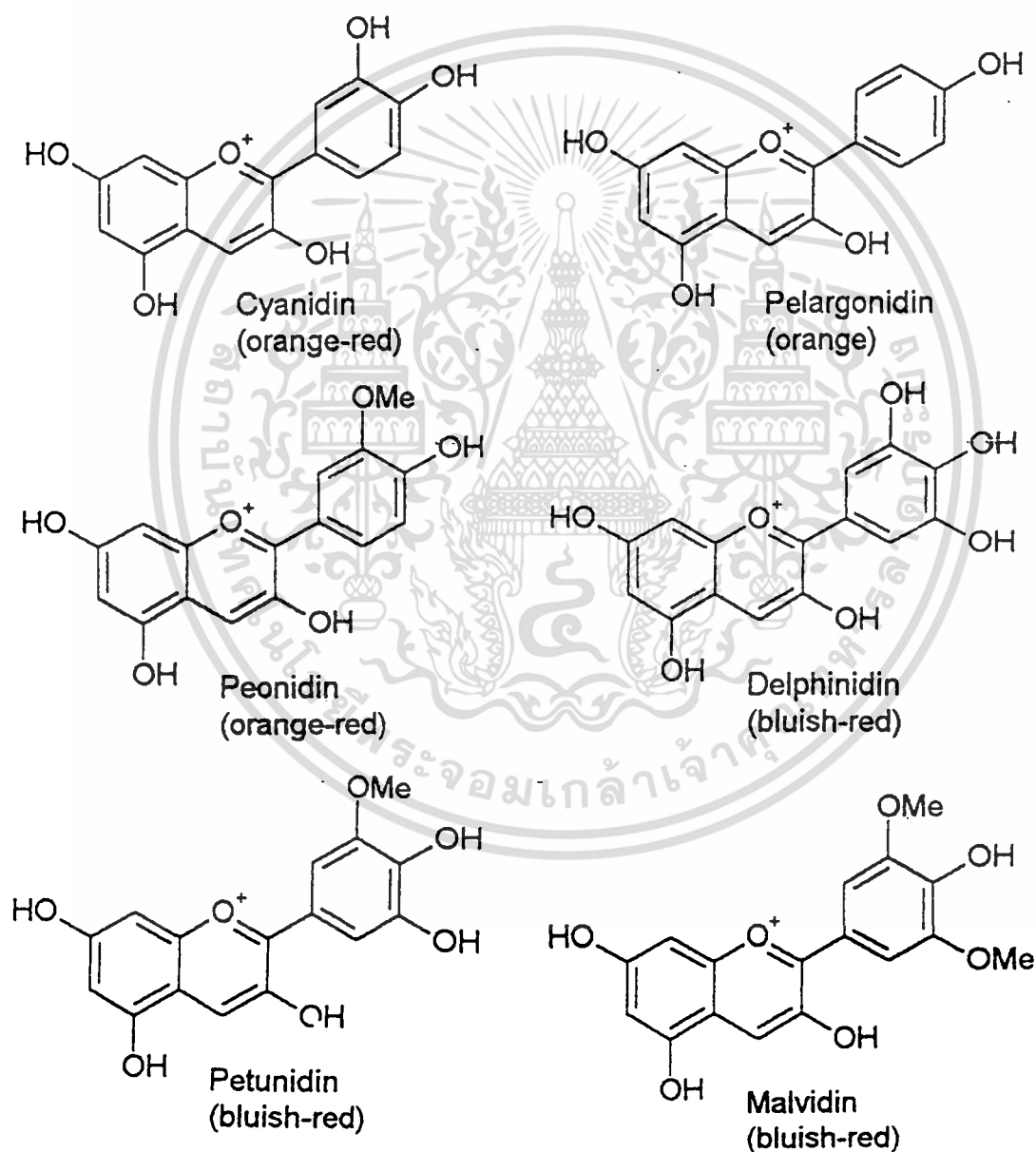


รูปที่ 2.2 รูปแสดงโครงสร้างของ Flavylium Cation

ที่มา : เอกสารอ้างอิงหมายเลข 33 หน้า 2 (ไม่ได้ขออนุญาต)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยปกติแอนโทไซยานินจะไม่พบเป็นอิสระในเนื้อเยื่อของพืช และแอนโทไซยานินแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไปตามจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลและองศาการ Methylation ของหมู่ไฮดรอกซิล ดังนั้นการแบ่งชนิดของแอนโทไซยานินจึงพิจารณาจากตำแหน่งและจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่เมทอกซีในโมเลกุล ซึ่งจากการศึกษาแล้วในปัจจุบันพบว่ามียู่ 18 ชนิด แต่ที่มักพบเป็น aglycone ของแอนโทไซยานินจะมีอยู่ 6 ชนิด ดังแสดงในรูปที่ 2.3 ซึ่งปัจจุบันมีการค้นพบแอนโทไซยานินในพืชมากกว่า 150 ชนิด และในบรรดาแอนโทไซยานินทั้ง 6 ชนิดจะพบชนิด Cyanidin มากที่สุด



รูปที่ 2.3 รูปแสดงแอนโทไซยานินที่เป็น Aglycone ของแอนโทไซยานินที่พบบ่อยในธรรมชาติ

ที่มา : ประยุกต์ดัดแปลงจาก เอกสารอ้างอิงหมายเลข 33 หน้า 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาพบว่าสารที่มีหมู่ไฮดรอกซีอิสระที่ตำแหน่งที่ 3 จะเป็นการลดเสถียรภาพ อีกทั้งยังทำให้การละลายในตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นหลักลดลงกว่ารูปที่เกิดพันธะไกลโคไซด์กับโมเลกุลของน้ำตาล ดังนั้นหมู่ไฮดรอกซีที่ตำแหน่งที่ 3 ของแอนโทไซยานินมักจะมีโมเลกุลของน้ำตาลอยู่เสมอ

ลักษณะและตำแหน่งของน้ำตาลที่เกาะอยู่ในโมเลกุลของแอนโทไซยานินที่พบบ่อย ๆ สามารถจัดเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้ 4 กลุ่ม ได้แก่ 3-monoside , 3-bioside , 3,5-diglycoside และ 3,7-diglycoside ซึ่งส่วนมากมักจะพบ 2 กลุ่มแรก และน้ำตาลที่พบนั้นมักจะเป็นพวก Pyranose form โดยมักจะพบกลูโคสเป็นส่วนมาก ในหลายกรณีพบว่าน้ำตาลที่เกาะอยู่ในโมเลกุลเหล่านี้จะถูก Acylated ด้วยกรดอินทรีย์ประเภท Phenolic acid และมักนิยมเรียกแอนโทไซยานินที่น้ำตาลที่เกาะอยู่ในโมเลกุลถูก Acylated นี้ว่า “แอนโทไซยานินแบบแอซิเลต (Acylated anthocyanin)” ซึ่งจะได้กล่าวรายละเอียดต่อไป

สารประกอบแอนโทไซยานินทำให้ส่วนประกอบต่าง ๆ ของพืชที่มีสารชนิดนี้อยู่มีสีส้ม ถ้าส่วนนั้นเป็นดอกหรือผล สีที่เกิดเชื่อว่าจะเป็นส่วนช่วยให้เกิดการถ่ายละอองเกสรและการแพร่กระจายของเมล็ดโดยสัตว์ สำหรับในใบการมีแอนโทไซยานินเสมือนเป็นแผ่นกันแสงที่ช่วยต้านทานอันตรายจากแสงอัลตราไวโอเล็ต นอกจากนี้แล้วยังพบว่าในพืชบางชนิดได้แก่ กะหล่ำปลี ดอกทานตะวัน เมล็ดถั่ว-แดง และข้าวโพด แอนโทไซยานินมีส่วนช่วยในการต่อต้านกับพวกพยาธิและสิ่งมีชีวิตที่ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้ (Pathogen)

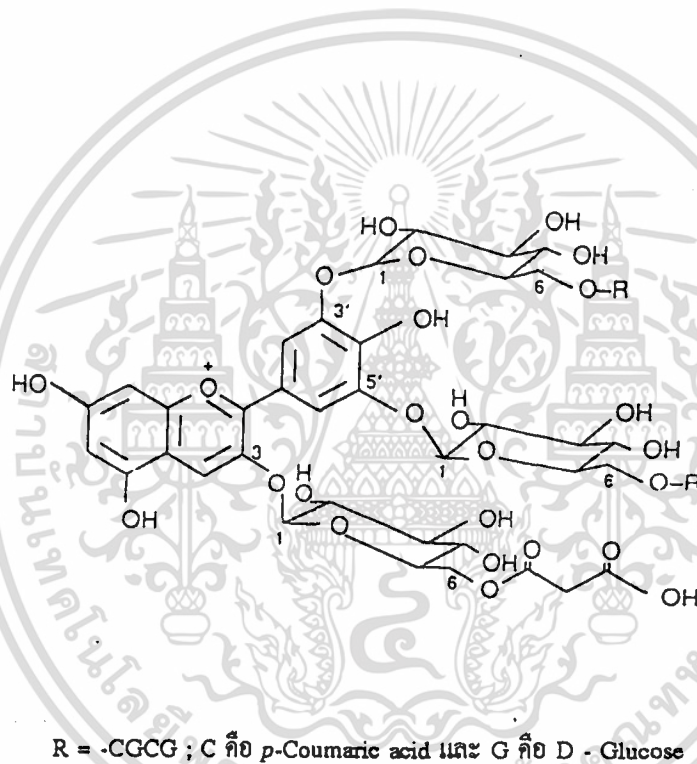
Acylated Anthocyanins

Acylated หรือ “Complex” Anthocyanin คือ แอนโทไซยานินที่มีการเกิดพันธะโควาเลนต์เชื่อมกับหมู่เอซิลต่าง ๆ โดยที่มากมักจะเป็นอนุพันธ์ของกรดฟีนอลิก (Phenolic acid) ได้แก่ *p*-Coumaric acid , Caffeic acid , Ferulic acid และ Sinapic acid แต่ที่อาจพบพวก *p*-hydroxybenzoic acid , Malonic acid , Oxalic acid , Malic acid , Succinic acid หรือแม้แต่ Acetic acid จากการศึกษาลำเนาพบว่าแอนโทไซยานินพวกนี้มักจะพบในไม้ประดับมากกว่าพืชผักผลไม้³

ลักษณะการต่อเชื่อมกับหมู่เอซิลต่าง ๆ มีได้หลายลักษณะ โดยอาจจะเป็น Polyacylated ที่มีทั้งอะโรมาติกและอะลิฟาติกในโมเลกุล เช่น Ternatin A1 ที่สกัดได้จากดอกอัญชัน (Butterfly pea) ซึ่งเป็นแอนโทไซยานินชนิดแอซิเลตที่มีโครงสร้างใหญ่ที่สุดในขณะนี้ สารชนิดนี้เป็นอนุพันธ์ Polyacylated ของ Delphinidin 3,3,5'-triglucoside ซึ่งจะประกอบด้วย Aglycone เป็น Delphinidin และมีน้ำตาลกลูโคส 7 โมเลกุล กรดพาราความาริก (*p*-Coumaric acid) 4 โมเลกุล และกรดมาโลนิก (Malonic acid) 1 โมเลกุล ดังรูปที่ 2.4 หรือในกรณีของ Cinerarin

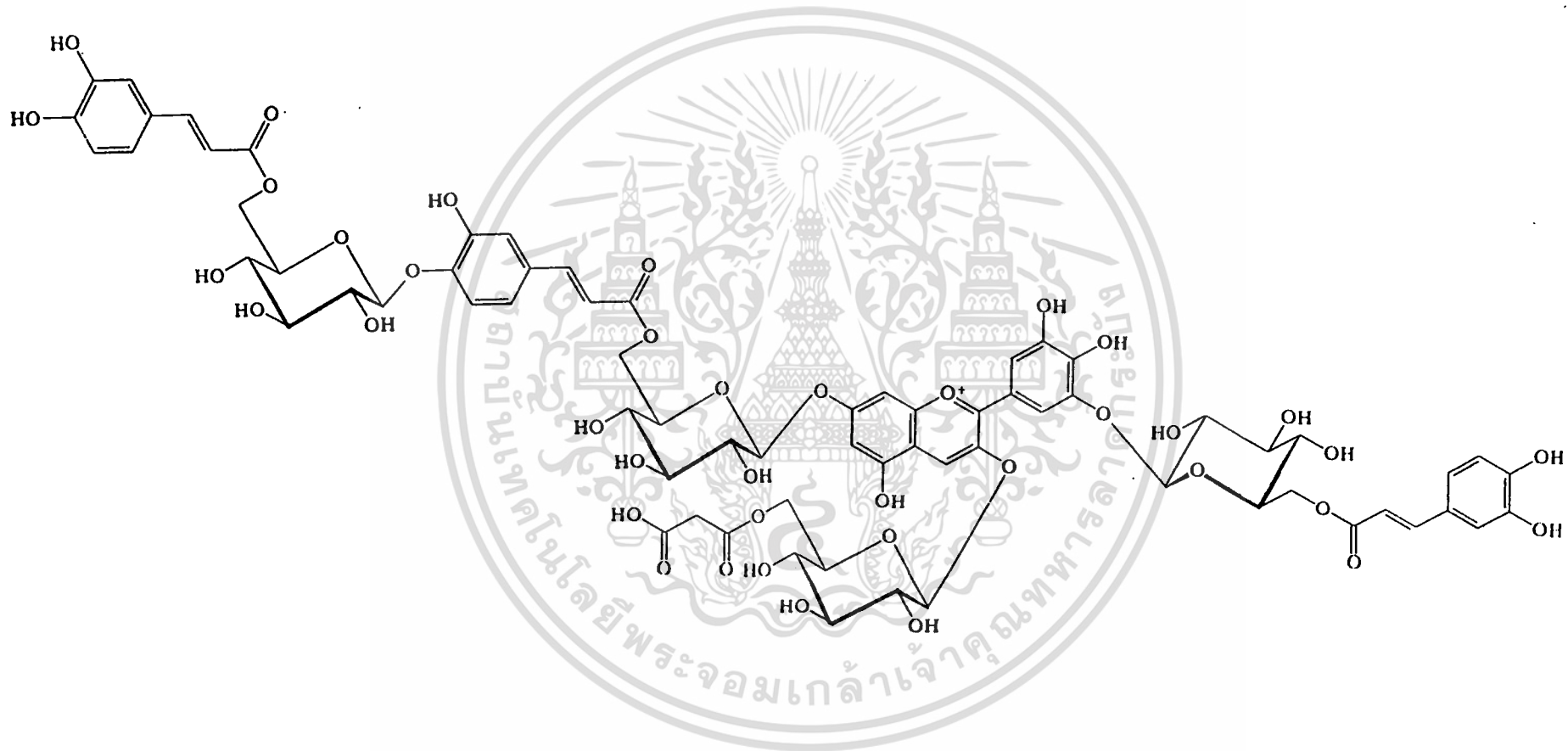
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการเผยแพร่งานวิจัยเท่านั้น เมื่อเผยแพร่เห็นไปขอสงวนสิทธิ์ในการค้า
ไม่ว่าการณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่สกัดได้จาก *Cenecio cruentus* (Garden Cineraria) ; (ดูรูปที่ 2.5) หรืออาจเกิดแอซีเลชันกับกรดฟีนอลิกและกรดอะลิฟาติกซึ่งอาจไม่ใช่ Polyacylated เช่น Monardaenin ที่สกัดได้จาก *Monarda didyma* (Golden Balm) ; (รูปที่ 2.6) แม้แต่ในลักษณะที่เป็น Polyacylated ของกรดอะโรมาติกอย่างเดี่ยวยังมี 2 โมเลกุลขึ้นไปทั้งเป็นวง ตัวอย่างเช่น Platycodin (รูปที่ 2.7) ที่สกัดได้จาก *Platycodon grandiflorum* (Chinese Bellflower) และที่เป็น Non-cyclic เช่น Zebrinin ที่สกัดได้จากใบของ *Zebrina pendula* (ดูรูปที่ 2.8)

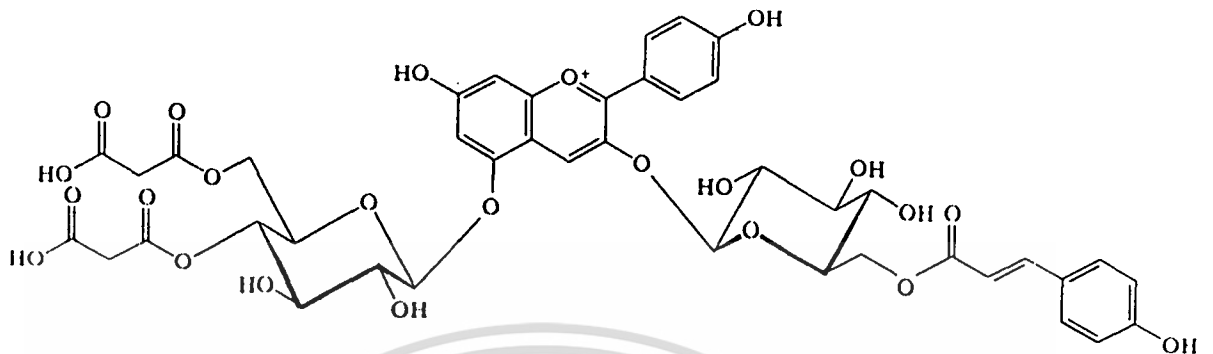


รูปที่ 2.8 รูปแสดงโครงสร้างของ Ternatin A1 ที่สกัดได้จากดอกอัญชัน
ที่มา : เอกสารอ้างอิงหมายเลข 33 หน้า 6 (ไม่ได้ขออนุญาต)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

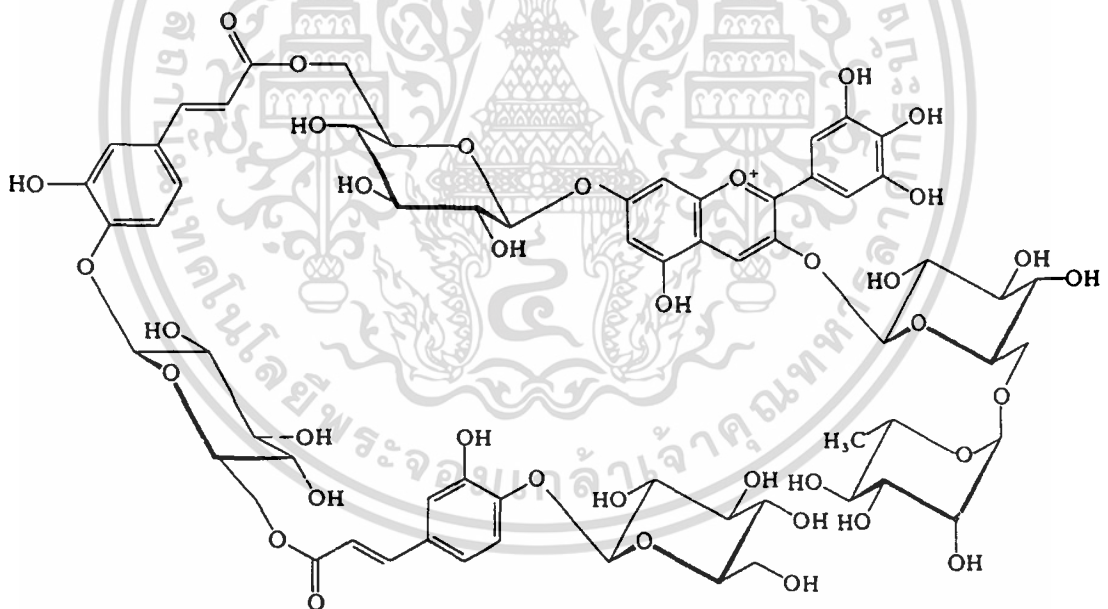


รูปที่ 2.5 รูปแสดงโครงสร้างของ Cinerarin ที่สกัดได้จาก Garden Cineraria
 ที่มา : เอกสารอ้างอิงหมายเลข 11 หน้า 125 (ไม่ได้ขออนุญาต)



รูปที่ 2.6 รูปแสดงโครงสร้างของ Monardaenin ที่สกัดได้จากต้น Golden Balm

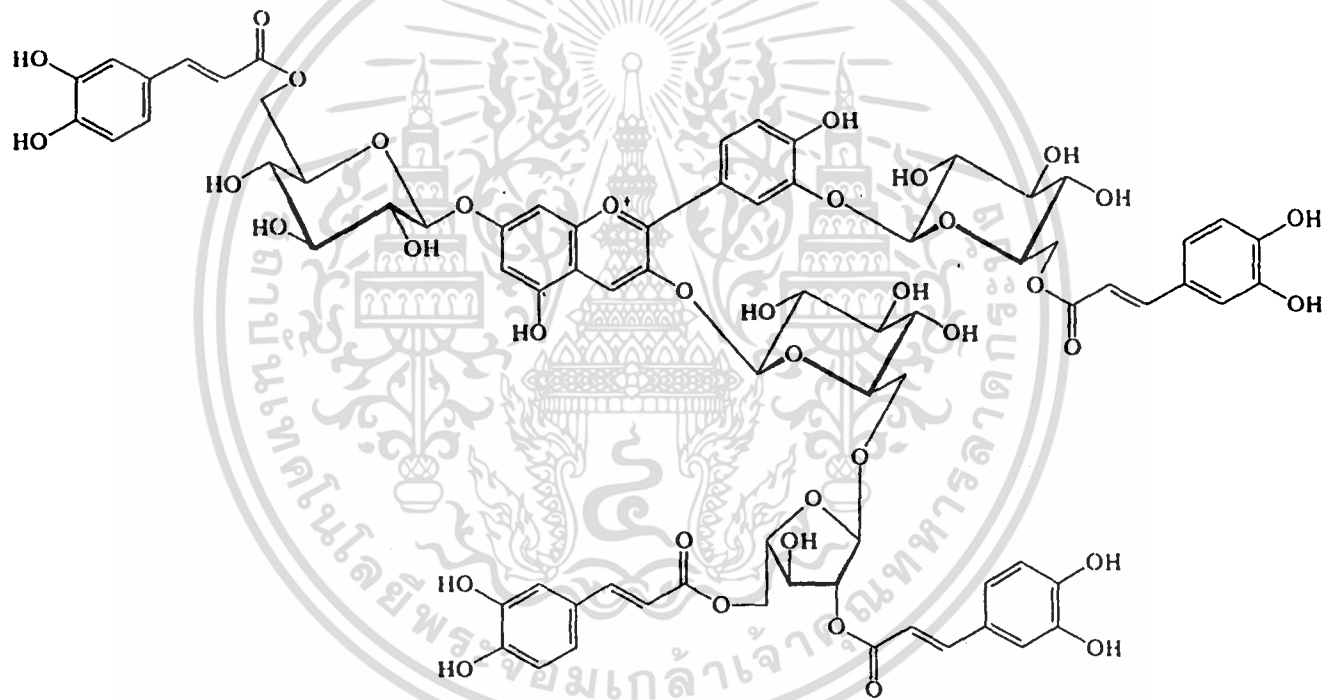
ที่มา : เอกสารอ้างอิงหมายเลข 11 หน้า 127



รูปที่ 2.7 รูปแสดงโครงสร้างของ Platycodonin ที่สกัดได้จากต้น Chinese Bellflower

ที่มา : เอกสารอ้างอิงหมายเลข 11 หน้า 124

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

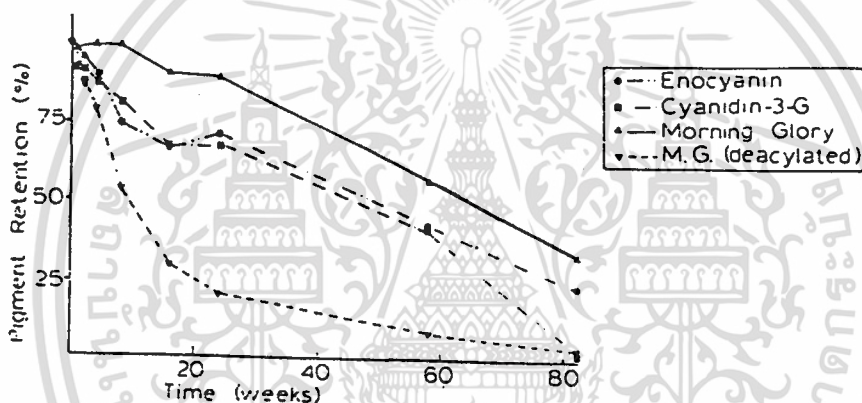


รูปที่ 2.8 รูปแสดงโครงสร้างของ Zebrinin ที่สกัดได้จาก *Zebrina pendula*

ที่มา : เอกสารอ้างอิงหมายเลข 11 หน้า 127

ลักษณะโครงสร้างที่ซับซ้อนดังที่กล่าวมาแล้วสามารถตรวจสอบได้ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโคปี เช่น Fast Atom Bombardment , Mass Spectroscopy , H-H Correlated Spectroscopy อีกทั้งใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี เช่น Gradient ODS HPLC ช่วยทำให้สามารถแยกสารเหล่านี้ออกมาได้ค่อนข้างบริสุทธิ์

ความสนใจในการศึกษาแอนโทไซยานินชนิดแอนซีเลตมีสาเหตุมาจากลักษณะที่มีการกระจายทางอนุกรมวิธาน (Taxonomic Distribution) อย่างจำกัด แต่เมื่อมีการศึกษาพบว่า การเกิด acylation ช่วยเพิ่มเสถียรภาพของเม็ดสีให้ดีขึ้น สีซีดจางลงได้น้อยกว่าและช้ากว่า⁴³ (รูปที่ 2.9) อีกทั้งไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงสภาพเมื่อ pH เปลี่ยนแปลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งหมู่เอซิลที่มีขนาดใหญ่จะยับยั้งการเกิดรูป Pseudobase และ รูป Chalcone²⁴ จึงทำให้สารชนิดนี้ได้รับความสนใจมากยิ่งขึ้น



รูปที่ 2.9 กราฟแสดงปริมาณการคงอยู่ของแอนโทไซยานินชนิดแอนซีเลตที่สกัดได้จากดอกมอร์นิงกลอรี (Morning glory) , สารที่สกัดจากดอกมอร์นิงกลอรีที่ถูกจัดหมู่เอซิล , Cyanidin-3-Glucoside และ Encocyanin เทียบกับเวลา

การตรวจสอบสารที่สกัดได้ว่าเป็นแอนโทไซยานินชนิดแอนซีเลตหรือไม่ทำได้หลายวิธี วิธีแรกคือ การดูค่า R_f ที่ได้จากการทำเปเปอร์โครมาโตกราฟี โดยพบว่าเมื่อนำสารพวกนี้ทำโครมาโตกราฟีในของผสมระหว่าง *n*-Butanol และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 N ในอัตราส่วน 1 : 1 (ใช้เฉพาะสารละลายชั้นบน) จะได้แถบสี 2 แถบ โดยแถบส่วนใหญ่จะอยู่ที่ค่า R_f สูง ๆ และมีส่วนน้อยอยู่ที่ค่าต่ำ และถ้าแยกแถบส่วนใหญ่ออกมาโดยใช้เทคนิคทางโครมาโตกราฟีแล้วนำมา spot อีกครั้งจะพบว่าแยกเป็น 2 จุดอีกเช่นเดิม ที่เป็นเช่นนี้เพราะ Acyl Linkage เกิดการแตกพันธะได้ง่ายกว่า Glycosidic Bond และเมื่อเติมด่างและทำการเติมกรดปรับสภาพอีกครั้ง (Reacidified) จะปรากฏเพียงแถบสีเดียวที่ค่า R_f เท่ากับแถบสีส่วนน้อยในตอนแรก โดยจะไม่เห็นแถบสีที่ค่า R_f สูง นอกจากนี้ลักษณะอีกประการที่น่าสนใจคือ ค่า R_f จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ตัวทำละลายที่มี *n*-Butanol เป็นส่วนผสมหลัก และจะมีค่าลดลงเมื่อใช้ตัวทำละลายที่มีน้ำเป็นส่วนใหญ่¹⁵

วิธีที่สอง คือ คุณลักษณะสเปกตรัมของการดูดกลืนแสง ซึ่งจะมีลักษณะเฉพาะแตกต่างจากแอนโทไซยานินทั่วไป คือ จะมี Absorption peak เกิดขึ้นบริเวณประมาณ 308 ถึง ประมาณ 329 นาโนเมตรเมื่อสารนั้นสกัดโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกในเมทานอล (3:97,v/v) ซึ่งคาดว่าเกิดขึ้นเนื่องจาก Superimposition ของการดูดกลืนของพวกหมู่เอซิลที่เป็นอนุพันธ์ของกรดซินนามิก¹⁴

สำหรับในกรณีของ Acylated diglycosides จะทดสอบโดยใช้การหาค่า Distribution number ซึ่งคือ ปริมาณของแอนโทไซยานินที่สกัดออกมาได้จากสารละลายกรดโดยใช้เอมิลแอลกอฮอล์ในปริมาตรที่เท่ากัน โดยตอนแรกจะสกัดสารตัวอย่างด้วยเอมิลแอลกอฮอล์ แล้วหาค่า Distribution number จากนั้นเตรียมสารตัวอย่างอีกชุดนำมาเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 20 % ที่ร้อนจนเป็นสีเขียวอมเหลืองหรือน้ำตาลเหลือง แล้วทำการต้มสัก 5 ถึง 10 วินาที นำมาเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นที่ละลายจนกระทั่งสีกลับมาเป็นสีออกแดงอีกครั้งเติมเกินไปอีกหยด ทิ้งไว้สัก 15 วินาทีแล้วนำมาหา Distribution number อีกครั้ง ถ้าเป็น Acylated diglycosides ค่าที่หาได้ตอนหลังจะลดลงจนเกือบเท่ากับศูนย์แต่ถ้าไม่ใช่แอนโทไซยานินชนิดแอซีเลต ค่าที่ได้ทั้งสองครั้งจะไม่ต่างกัน

ถ้าหากต้องการทดสอบสารที่สกัดได้ว่าจะเป็น Acylated Anthocyanin - 3,5 diglycosides หรือไม่ สามารถตรวจสอบได้โดยใช้การทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน เพราะจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเฉพาะเจาะจง กล่าวคือ จากการศึกษาของ Hrazdina และ Franzese¹⁷ พบว่าการทำออกซิเดชัน Acylated Anthocyanin- 3,5 diglycosides โดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในสถานะเป็นกรดจะได้ผลิตภัณฑ์เป็น *o*-Benzoyloxyphenylacetic acid ester และเมื่อทำในสถานะเป็นกลางจะได้ 3-*O*-Acyl-glucosyl-5-*O*-glucosyl-7-hydroxy coumarin

สำหรับตำแหน่งของการเกิดแอซีเลชันและชนิดของหมู่เอซิล ก็สามารถหาได้โดยใช้ปฏิกิริยาไฮโครลิซิสโดยอาจจะทำหรือไม่ทำ Methylation ด้วยก็ได้ และทำการวิเคราะห์น้ำตาลและ/หรือ Methylated product ที่เกิดขึ้นถ้าหากหมู่เอซิลเป็นพวกอนุพันธ์ของกรดไฮดรอกซีซินนามิกจะต้องทำไฮโครลิซิสในด่าง เพราะกรดพวกนี้ไม่เสถียรในสารละลายกรดที่ร้อน เมื่อทำการ Acidification สารที่ผ่านการไฮโครไลซ์แล้วพวกสารประกอบที่เป็นหมู่เอซิลที่หลุดออกมาสามารถสกัดแยกออกมาโดยใช้ไดเอทิลอีเทอร์ จากนั้นจึงนำมาวิเคราะห์โดยใช้ TLC ทำเทียบกับสารมาตรฐาน อีกวิธีที่มีการใช้กัน คือ การนำมาทำปฏิกิริยา Oxidative Cleavage โดยใช้โซเดียมเปอร์ไอโอเดต ตามด้วยการทำรีดักชันโดยใช้โซเดียมโบโรไฮไดรด์ และวิเคราะห์แอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้น โดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟีและเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 สารประกอบแอนโทไซยานินในกะหล่ำปลีสีม่วง

เม็ดสีสีแดงในกะหล่ำปลีสีม่วง :- *Brassica oleracea* ได้มีการสนใจศึกษากันมาตั้งแต่ศตวรรษที่ 19 โดยครั้งนั้นได้เรียกสารชนิดนี้ว่า Rubrobrassicin ซึ่งวิเคราะห์ออกมาได้ว่าเป็น Cyanidin ที่ถูก Esterified ด้วยกรดซินาปิก (Sinapic acid) และได้มีการศึกษากันต่อมาเรื่อย ๆ โดย Tanchev และ Timberlake⁴² ได้ยืนยันว่าเป็น Sinapic ester ของ Cyanidin จริง โดยมีอยู่ 2 ชนิด คือ Cyanidin 3-sophoroside-5-glucoside ซึ่งเกิดการเอซีเลตกับกรดซินาปิก และ Cyanidin 3-sophoroside-5-glucoside ในลักษณะไอเอซีเลตกับกรดซินาปิก และจากการศึกษากะหล่ำปลีสีม่วงพันธุ์ Red Danish ของ Hrazdina และคณะ¹⁸ ก็ยืนยันการศึกษาต่าง ๆ ก่อนหน้านี้ อีกทั้งยังวิเคราะห์โครงสร้างได้เพิ่มอีกจากเดิม โดยพบว่ามีโครงสร้างที่เป็น Cyanidin 3-sophoroside-5-glucoside ซึ่งเกิดการเอซีเลตกับกรดมาโลนิกและกรดฟีลลูริก (Ferulic acid) ด้วยรวมแล้วในกะหล่ำปลีสีม่วงมีแอนโทไซยานินอยู่ 8 ชนิด

ในปี 1987 Idaka²³ ได้ลงสิทธิบัตรเรื่องการใช้ HPLC และเทคนิคทางสเปกโทรสโคปีในการวิเคราะห์โครงสร้างของแอนโทไซยานินในกะหล่ำปลีสีม่วงพบว่ามีทั้งหมด 15 ชนิดและที่มีผลสรุปแน่ชัดสามารถระบุโครงสร้างได้มี 11 ชนิด ในปีเดียวกัน Idaka และคณะ^{20,21} ได้ตีพิมพ์เรื่องวิเคราะห์โครงสร้างของแอนโทไซยานินในกะหล่ำปลีสีม่วงโดยระบุว่า มีแอนโทไซยานินชนิดเอซีเลตทั้งที่เป็น Mono และ Diacylated โดยพบว่ายังมีองศาการเกิด Acylation มากเสถียรภาพจะยิ่งดีขึ้น

การนำแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงไปประยุกต์ใช้นั้น ได้เริ่มสนใจตั้งแต่ประมาณ ค.ศ.1975 โดยเห็นว่าน่าจะมีความเป็นไปได้ในการนำมาใช้เป็นแหล่งของสีจากธรรมชาติสำหรับใช้เป็นสีผสมอาหาร Shewfelt และ Ahmed⁴⁰ ได้รายงานความสำเร็จในการแยกเม็ดสีโดยใช้ SO₂ 350 ppm ในน้ำ จากนั้นทำให้บริสุทธิ์โดยใช้วิธีการแลกเปลี่ยนไอออนและเตรียมเม็ดสีให้อยู่ในรูปผงโดยใช้วิธี Freeze-dried อีกทั้งยังแสดงให้เห็นว่าสีที่ได้มีเสถียรภาพดีกว่าสีแดงเบอร์ 40 ซึ่งนิยมใช้ในเครื่องดื่ม ต่อมาได้มีการศึกษาอีกมากมายทั้งนำมาทดลองใช้จริง รวมถึงการหาวิธีสกัดแยก การทำให้สารที่สกัดได้บริสุทธิ์ รวมถึงกระบวนการผลิตเม็ดสีที่จะให้มีคุณภาพดี

ในปี 1990 บริษัท San-Bi Chemical Industries, Ltd. ได้ผลิตสีผสมอาหารจากสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงออกสู่ตลาดภายใต้ชื่อการค้าว่า "San Red RC" โดยนำกะหล่ำปลีสีม่วงมาตัดและบดจากนั้นทำการกรองโดยใช้ Centrifugal separator แล้วทำการปรับค่าพีเอชโดยใช้ McIlvaine's buffer ให้มี pH = 3.0 จากนั้นนำผ่านกรรมวิธี Microfiltration โดยใช้ MF membrane PW-303 ภายใต้อัตราความดัน แล้วทำ Ultrafiltration ต่อจะได้สารละลายใส แล้วทำ Reverse osmosis เพื่อให้สารที่ได้เข้มข้นขึ้นและเป็นการขจัดกลิ่นปิดท้ายด้วยการทำให้เข้มข้นขึ้น การคำนวณการคำนวณไม่ว่ากรรมวิธีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อีกด้วย Vacuum³⁸ ผลึกภัณฑ์ที่ได้จะให้สีน้ำเงินเข้มปนแดงที่ค่าพีเอช 3.0 หรือต่ำกว่าและเมื่อ pH สูงขึ้นจะมีสีน้ำเงินขึ้นจนถึงค่า pH ประมาณ 4.0 หรือมากกว่า ซึ่งทางผู้ผลิตแนะนำว่าเหมาะแก่การใช้เป็นสีผสมในเครื่องดื่ม หมากฝรั่ง ลูกอม ไอศกรีมพวกเชอร์เบท น้ำสลัดและโยเกิร์ต จากการทดสอบ Heat และ Light Stability พบว่าสีที่ได้มีเสถียรภาพดีกว่าสีที่ผลิตจากการนำองุ่นและน้ำจากหัวบีท³⁷

2.2 การสกัดสารประกอบแอนโทไซยานินออกจากวัสดุธรรมชาติ

โดยทั่วไปในการสกัดสารออกจากวัสดุธรรมชาติปัจจัยสำคัญในการเลือกวิธีการ ได้แก่ ลักษณะเนื้อเยื่อ ปริมาณน้ำ (Water content) คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ และชนิดของสารที่ต้องการสกัดออกมา วิธีที่นิยมใช้ในการสกัดสารออกจากวัสดุธรรมชาติ มีดังนี้

ก.) Maceration เป็นวิธีการสกัดโดยการหมักวัสดุธรรมชาติกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปกรวย โดยปกติจะทิ้งไว้ 7 วัน โดยหมั่นเขย่าหรือคนบ่อย ๆ เมื่อครบกำหนดเวลาจะค่อย ๆ รินสารออกและพยายามบีบเอาสารละลายออกจากกากให้มากที่สุด รวบรวมสารที่ได้นำไปกรอง ถ้าต้องการสกัดให้หมดจดอาจจำเป็นต้องสกัดซ้ำหลาย ๆ ครั้ง ข้อดีของวิธีนี้ คือ สารไม่ถูกความร้อน แต่ข้อเสียคือสิ้นเปลืองตัวทำละลายมากและเนื่องจากวิธีการนี้ช้าจึงได้มีการพัฒนาตัดแปลงใช้ Mixer หรือ Homoginizer มาช่วยทำให้เซลล์พืชแตกออก การสกัดจึงเร็วขึ้น เรียกวิธีนี้ว่า “Vortical (turbo) extraction”

ข.) Percolation เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องโดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า “Percolator” โดยนำวัสดุธรรมชาติมาหมักกับตัวทำละลายพอขึ้น ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่ แล้วค่อย ๆ บรรจุลงใน Percolator ทีละน้อยเป็นชั้น ๆ แล้วเติมตัวทำละลายลงไปให้ระดับตัวทำละลายสูงเหนือชั้นของวัสดุธรรมชาติ (Solvent Head) ประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วจึงเริ่มไขเอาสารที่สกัดออก โดยคอยเติมตัวทำละลายให้เหนือชั้นของวัสดุธรรมชาติ อย่าให้แห้ง เก็บสารที่สกัดได้จนการสกัดเกิดสมบูรณ์ บีบกากเอาสารสกัดให้ได้มากที่สุด แล้วเก็บรวบรวมไปกรอง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในระดับอุตสาหกรรมจะใช้ Percolator ต่อกันหลาย ๆ ตัว เรียกว่า “Countercurrent-operated percolator battery”

ค.) การสกัดด้วย Soxlet Extractor วิธีนี้ไม่เหมาะกับสารที่สามารถละลายตัวได้เนื่องจากความร้อน

ง.) Liquid-liquid Extraction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ.) Resorption เป็นวิธีที่ใช้สกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีดูดซับ มักใช้สกัดสารจากกลีบดอกไม้

ฉ.) Steam Distillation มักใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหย

ช.) Water Distillation เป็นวิธีการกลั่นน้ำมันหอมระเหยโดยต้มกับน้ำ โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า "Clevenger's apparatus"

ซ.) Extraction by Thermomicrodistillation เป็นการสกัดสารโดยใช้เครื่อง "Thermomicro Analysis and Separation Ovens ; TAS Oven" ใช้ในการสกัดสารขนาดเล็กมาก โดยนำวัสดุธรรมชาติใส่ลงใน Cartridge ซึ่งข้างหนึ่ง Seal อีกข้างหนึ่งเป็น Capillaries เมื่อใส่เข้าไปใน Oven ความร้อนจะทำให้สารระเหย หรือ ระเหิดออกมาทาง Capillaries และรองรับสารที่ระเหยหรือระเหิดออกมาด้วยแผ่น TLC แล้วนำไปตรวจสอบ

โดยปกติแล้วในการสกัดวัสดุธรรมชาติ สารพวกแอลกอฮอล์จัดได้ว่าเป็นตัวทำละลายเอนกประสงค์ (All-purpose solvent) ที่ดีสำหรับ Preliminary extraction วัสดุธรรมชาติที่ต้องการสกัดจะถูกทำลายเนื้อเยื่อโดยตัด สับ หั่น หรือบดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ทั้งนี้เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันโดยเอนไซม์หรือเกิดไฮโดรลิซิสขึ้น แล้วทำการแช่ในตัวทำละลายซึ่งบรรจุอยู่ใน Blender ทำการกรองโดยผ่าน Celite บน Water pump และทำให้เข้มข้นขึ้นโดยมักจะใช้ Rotary evaporator

เมื่อพิจารณาธรรมชาติของเนื้อเยื่อที่มีแอนโทไซยานินอยู่และสมบัติโดยทั่วไปของสารชนิดนี้ ในกรณีทั่ว ๆ ไป แอนโทไซยานินจะสะสมใน Vacuole ที่อยู่ในเนื้อเยื่อชั้น Epidermal และ Sub-epidermal ซึ่งในกะหล่ำปลีสีม่วงนั้นจะถูกสะสมอยู่ใน Cellular sap ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นอยู่ภายใน Intracellular organelles ซึ่งมีชื่อว่า "Anthocyanoplast" ซึ่งถูกห่อหุ้มด้วย Single tripartite membrane ซึ่งมีความหนาประมาณ 10 มิลลิเมตรแทนที่จะอยู่ใน Vacuole จากการศึกษพบว่าไม่มีพวก Vacuolar organelles อยู่เลย พบแต่พวก Osmiophilic globule ซึ่งไม่มีเยื่อหุ้มและไม่มีโครงสร้างภายใน³³

ดังนั้นตัวทำละลายที่จะให้ประสิทธิภาพที่ดีที่สุดจะต้องประกอบด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งเข้ากันได้เป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำและกรดซึ่งมีความเป็นไอออนิกที่แรง Non-polar character ของตัวทำละลายอินทรีย์มีความสำคัญต่อการ Denature (หรืออาจจะไปละลาย) Membrane ของ Anthocyanoplast และทำหน้าที่เป็นตัวพาให้เม็ดสีเคลื่อนเข้าสู่สารละลายที่ใช้สกัด ส่วน Polar character ของตัวกรดจะช่วยส่งเสริม Ionic character ของตัวทำละลายและทำให้เม็ดสีมีเสถียรภาพ (สำหรับแอนโทไซยานินรูปที่เสถียรที่กล่าวถึงนี้คือรูป Flavylium cation) และใน Homologous series ของตัวทำละลายอินทรีย์พวกหนึ่ง ๆ การสกัดจะมีประสิทธิภาพสูงสุดในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดที่เข้าเป็นเนื้อเดียวกับน้ำได้ดีกว่าและมี Ionic member ของ Series มากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ขึ้นต่อการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Metivier และคณะ³⁴ ได้ทำการทดลองใช้ตัวทำละลายกรดอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ทำการสกัด แอนโทไซยานินจากกากองุ่นที่ได้จากกระบวนการผลิตไวน์ โดยการเตรียมกากองุ่นให้เป็นผงแล้ว เติมลงในตัวทำละลายทำการปั่นกวนตลอดเวลา และเก็บตัวอย่างสารละลายเป็นช่วง ๆ เพื่อหาจุด ที่เหมาะสมของ Non-polar character ของตัวทำละลายอินทรีย์ที่จะให้ประสิทธิภาพการสกัดสูงที่สุด โดยได้ข้อสรุปดังนี้

- การใช้เมทานอลจะให้ปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดมากกว่าสกัดด้วยเอทานอล
- การใช้เอทานอลจะให้ปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดมากกว่าสกัดด้วยน้ำ
- การใช้เมทานอลจะให้ประสิทธิภาพดีกว่าใช้เอทานอล 20 % และดีกว่าใช้น้ำ 73 %
- การใช้กรดแอสซิติคในน้ำพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณกรดขึ้นเรื่อย ๆ จนถึง 30 % ประสิทธิภาพการสกัดจะเพิ่มขึ้น ในช่วงปริมาณกรด 30 % ถึง 50 % ประสิทธิภาพจะถึงจุดสูงสุด และเมื่อเพิ่มเกินจุดนี้ประสิทธิภาพจะลดลง ที่เป็นเช่นนี้เพราะกรดแอสซิติคมีทั้ง Polar และ Non-polar character ซึ่งปัจจัยทั้งสองจะส่งเสริมการสกัดจนกระทั่งถึง Non-polar enhancement limit
- ในน้ำกรดแอสซิติคส่งเสริมการสกัดดีกว่ากรดแร่ อาจเป็นเพราะทั้งน้ำและกรดแร่ไม่มีตัวใดที่แสดง Non-polar character อย่างเด่นชัด
- ในการใช้กรดแอสซิติคในเมทานอลพบว่าการสกัดจะถึงจุดสูงสุดที่ปริมาณกรดน้อยกว่าในน้ำและจุดสูงสุดก็มีค่าต่ำกว่าในน้ำ ซึ่งอาจเป็นเพราะ Polar factor ในเมทานอลมีค่าใกล้ Efficiency limit กว่าในน้ำ และ Polar character ของกรดแอสซิติคถูกทำให้ลดลงเนื่องจากการถึง Non-polar limit ที่กรดมีปริมาณต่ำ
- กรดแร่ให้ประสิทธิภาพสูงที่สุด ในขณะที่กรดอินทรีย์จะไปลดหน้าที่ช่วยส่งเสริมการสกัดเพราะทำให้ตัวทำละลายที่ใช้สกัดมี Organic character สูงขึ้น
- กรดไฮโดรคลอริกเป็นตัวทำละลายที่ส่งเสริมการประสิทธิภาพการสกัดดีกว่ากรดแอสซิติค จากการศึกษาไม่พบ Enhancement maximum เนื่องจากกรดไฮโดรคลอริกมี Non-polar character น้อยมาก ๆ การเติมกรดชนิดนี้ลงในเมทานอลซึ่งเป็นสารที่ Non-polar character เกือบจะถึงค่า Non-polar extraction enhancement limit ซึ่งจะไปลด Non-polar character และเพิ่ม Polar character การกระทำสองอย่างนี้จะไปเพิ่มการส่งเสริมการสกัดเพราะยิ่งเวลาผ่านไปยิ่งได้สารปริมาณมากยิ่งขึ้นเรื่อย ๆ ไม่มีจุดสูงสุดเหมือนในกรดชนิดอื่น ๆ ที่ใช้และจะให้ประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อใช้กับเมทานอล
- การใช้สัดส่วนของกรดไฮโดรคลอริก 0.001 , 0.01 และ 1.1 % ในเมทานอลไม่ทำให้ปริมาณเม็คที่สกัดได้เปลี่ยนแปลงไปมากนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กรดซิทริกเข้มข้น 5 % จะให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุดถ้าใช้เวลาในการสกัด 32 ชั่วโมง และใช้กับเมทานอล
- กรดทาร์ทาริกเข้มข้น 10 % จะให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุดถ้าใช้เวลาในการสกัด 16 ชั่วโมง

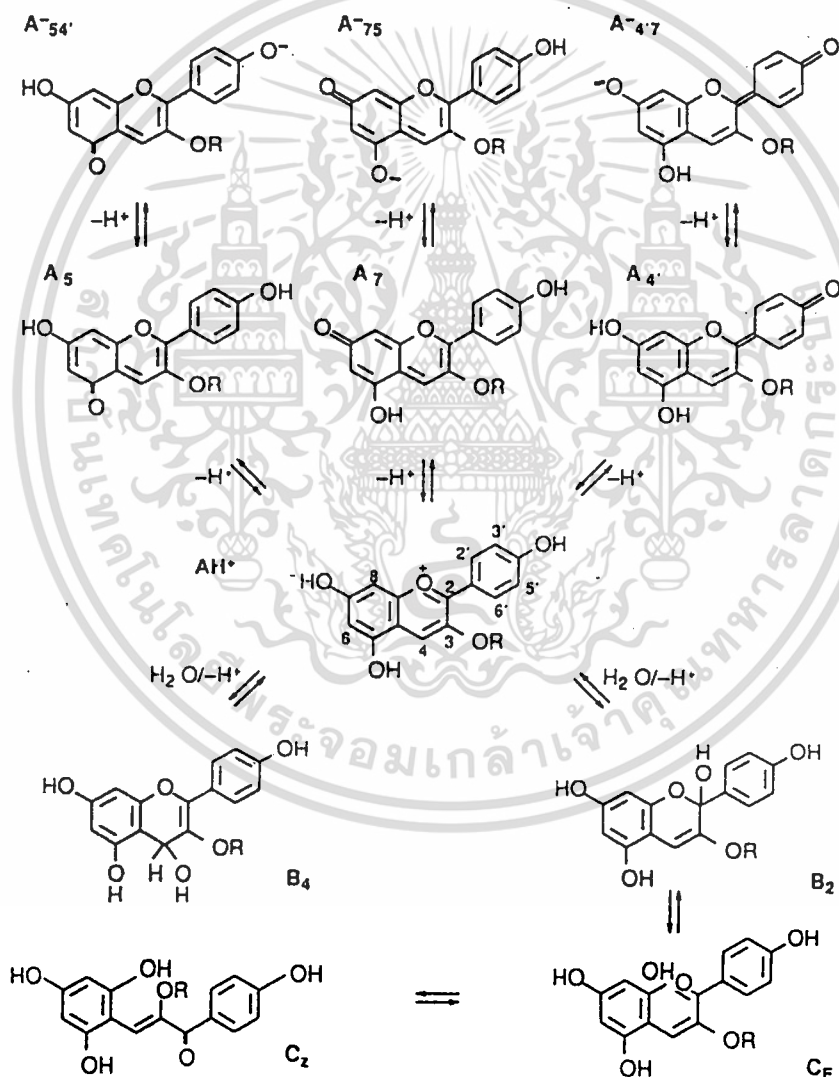
ปกติแล้วในการสกัดแอนโทไซยานินมักจะนิยมใช้วิธี Maceration คือ นำพืชและส่วนต่าง ๆ ของพืชมาสับตัด หรือบด แล้วแช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (ประมาณ 0.1-1.0%) ในเมทานอลหรือเอทานอล ซึ่งถ้าเป็นการนำสารที่สกัดได้มาใช้ในอุตสาหกรรมทางอาหารเอทานอลจะเหมาะสมกว่า เพราะความเป็นพิษของตัวเมทานอล

การใช้กรดไฮโดรคลอริกไม่เหมาะสมกับการนำมาใช้สกัดพวก Complex labile pigment เพราะจะไปทำลายโครงสร้างที่ซับซ้อนของ Complex ต่าง ๆ ทำให้เกิดการสูญเสียหมู่เอซิล โดยเฉพาะหมู่ที่เป็นพวกกรดอะดิฟตริก เช่น Malonyl conjugated และน้ำตาล ออกไปในช่วงการทำให้สารเข้มข้นขึ้นหรือทำให้เกิดการแตกพันธะของ Co-pigment ได้ซึ่งล้วนแล้วแต่เป็นสิ่งที่ทำให้สารที่สกัดได้มีเสถียรภาพลดน้อยลง จากการศึกษาของ Moore และคณะ³⁵ พบว่าสาเหตุที่เป็นเช่นนี้เพราะการมีแอนไอออนของธาตุที่มีค่า Electronegativity สูงอย่างเช่น คลอไรด์ไอออน ด้วยเหตุนี้จึงมีผู้ที่เสนอตัวทำละลายที่มีความแรงอ่อนกว่าไว้สำหรับสกัดเม็ดสีในกรณีที่เป็น Complex labile pigment ไว้มากมายเพื่อให้สารที่สกัดได้มีเสถียรภาพดีและคงรูปเหมือนในธรรมชาติไว้ให้ได้มากที่สุด ระบบตัวทำละลายที่ได้มีการเสนอกันไว้ เช่น Cold acetone⁷, 60% MeOH, Acetone/MeOH/Water mixture, n-BuOH²⁵, การใช้กรดชนิดอื่น ๆ ที่อ่อนกว่า เช่น Formic acid³⁶, Citric acid³¹, Tartaric acid³⁹, Acetic acid² (ใน Pentanol), Trifluoroacetic acid^{3,20,21} (ซึ่งมักใช้เมื่อสารที่สกัดมีหมู่เอซิลที่เป็นพวกกรดอะดิฟตริก), สารละลายของเกลือที่เป็นกลาง¹² (ตัวอย่างเช่น 4 M ของ MgCl₂ เป็นต้น) และ Acetic acid/MeOH/Water mixture⁴¹ หรือแม้แต่การใช้ น้ำต้มเดือดปกติ

ในการสกัดบางกรณีสามารถทำให้เกิดการสกัดได้สมบูรณ์ขึ้นโดยการเติมน้ำลงไป 10 ถึง 50 % และหากต้องการทำสารให้เข้มข้นขึ้นควรทำด้วยความระมัดระวังโดยใช้ Vacuum ที่อุณหภูมิไม่เกิน 30 °C แต่สำหรับกรณีของ Complex pigment ควรใช้วิธีที่มีความรุนแรงน้อยกว่าในการทำให้สารที่สกัดได้เข้มข้นหรือให้แห้งขึ้น วิธีที่แนะนำคือ ทำ Lyophilisation (Freeze drying) และถ้าหากจะต้องการเก็บสารที่สกัดได้ไว้เป็นระยะเวลาสั้น ๆ ควรเก็บในที่มืด อุณหภูมิประมาณ -20 °C และตัวสารควรอยู่ในบรรยากาศของไนโตรเจน

2.3 ผลของความเป็นกรด-เบสต่อสีของสารประกอบแอนโทไซยานิน

สมบัติอันหนึ่งของสารประกอบพวกแอนโทไซยานินที่น่าสนใจ คือ เป็นสารที่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH โดยจะประพฤติตัวเป็น pH indicators ในตัวกลางที่เป็นน้ำ ซึ่งสมบัติอันนี้ได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางเพื่อหาหลักการเปลี่ยนรูป จลน์ศาสตร์ของปฏิกิริยา และสมดุลของการเปลี่ยนสีแต่ละรูป โดยแอนโทไซยานินเมื่ออยู่ในตัวกลางที่เป็นกรดหรือกลาง จะมีโครงสร้าง 4 แบบที่เกิดสมดุลกันอยู่ คือ โครงสร้างที่เป็น Flavylium cation , โครงสร้างที่เป็น Quinonoidal anhydrobase , โครงสร้างที่เป็น Carbinol pseudobase และรูป Chalcone ดังรูปที่ 2.10



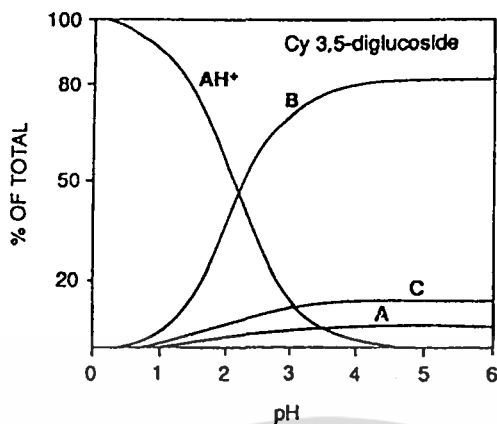
รูปที่ 2.10 รูปแสดงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานินในตัวกลางที่เป็นน้ำ โดย AH^+ คือ รูป Flavylium Cation , A คือ รูป Quinonoidal Anhydrobase โดยตัวเลขที่ห้อยกำกับอยู่คือตำแหน่งของคาร์บอนที่หมู่ไฮดรอกซีเกิดการสูญเสียโปรตอน , A^- คือ รูป Ionized Anhydrobase โดยตัวเลขตัวที่สองที่ห้อยกำกับอยู่คือตำแหน่งของคาร์บอนที่หมู่ไฮดรอกซีในรูป Quinonoidal Anhydrobase ที่เกิดการสูญเสียโปรตอน , B คือ ในด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมู่ไฮดรอกซีเกิดการสูญเสียโปรตอน , A คือ รูป Ionized Anhydrobase โดยตัวเลขตัวที่สองที่ห้อยกำกับอยู่ คือตำแหน่งของคาร์บอนที่หมู่ไฮดรอกซีในรูป Quinonoidal Anhydrobase ที่เกิดการสูญเสียโปรตอน , B คือ รูป Carbinol Pseudobase โดยตัวเลขที่ห้อยกำกับอยู่คือตำแหน่งของคาร์บอนที่ถูกน้ำเข้าทำปฏิกิริยาการเติม และ C คือ รูป Chalcone โดยตัวอักษรที่ห้อยกำกับจะแสดงชนิดของไอโซเมอร์

ที่ pH ต่ำกว่า 2 แอนโทไซยานินจะอยู่ในรูป Flavylium cation (จะเป็นสีแดงถ้าเกิดพันธะไกลโคไซด์ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 และจะเป็นสีเหลืองถ้าคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ไม่มีหมู่เกาะเลย ; เป็นไฮโดรเจน) ซึ่งมีความเสถียรเนื่องจากมี Resonance form มากถึง 6 รูป ทำให้ประจุบวก Delocalize ไปได้ทั่วตลอดโครงสร้างที่เป็น Heterocyclic นี้ เมื่อ pH เพิ่มขึ้นการสูญเสียโปรตอนอย่างรวดเร็วทำให้เกิดรูป Quinonoidal anhydrobase สีออกแดงหรือน้ำเงิน โดยโครงสร้างของ Anhydrobase ที่เกิดขึ้นจะมีผสมกันหลายรูป (รูปที่ 2.10) โดยที่ pK_a ของหมู่ไฮดรอกซีที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4', 7 และ 5 (ถ้ามี) จะมีค่าใกล้เคียงกัน³³

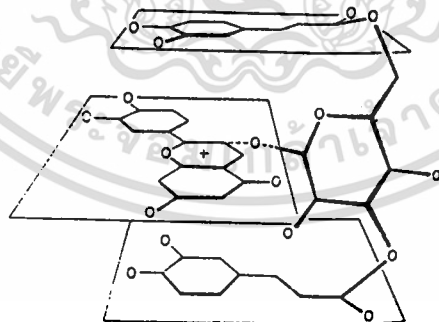
เมื่อตั้งทิ้งไว้จะเกิดปฏิกิริยาต่อไปโดย Flavylium cation จะเกิดปฏิกิริยา Hydration ให้รูป Carbinol base หรือ Pseudobase ที่ไม่มีสี แล้วจะเกิดการแตกวงต่อไปเกิดสมดุลกับรูป Chalcone ที่ไม่มีสี โดยปริมาณของทั้ง 4 รูปนี้ที่สมดุลจะแตกต่างกันออกไปขึ้นกับโครงสร้างของแอนโทไซยานินและค่าพีเอช

ตัวอย่างเช่น ในการศึกษาของ Mazza และ Brouillard³² เพื่อหาสมดุลของรูปต่าง ๆ ในตัวกลางที่เป็นน้ำที่ 25 °C โดยใช้ pH-jump method พบว่าในกรณีของ Cyanidin 3,5-diglucoside จะมีรูป Flavylium cation สีแดงอย่างเดียวที่ค่าพีเอชต่ำกว่า 0.5 เมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้นความเข้มข้นของรูปนี้จะลดลงเนื่องจากเกิด Hydration ไปเป็นรูป Pseudobase ที่ไม่มีสี โดยมีค่า pK ของปฏิกิริยาไฮเดรชันนี้ประมาณ 2.23 ± 0.10 เมื่อทั้งสองรูปมีปริมาณเท่ากัน (รูปที่ 2.11) และที่ค่าพีเอชนี้ก็จะเกิดรูป Chalcone ที่ไม่มีสีและรูป Quinonoidal base สีน้ำเงินด้วยเล็กน้อย และทั้งสองรูปจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อค่าพีเอชเพิ่มขึ้น และรูป Flavylium สีแดงจะหมดไปเมื่อมีค่าพีเอชประมาณ 4.5 ในช่วงระหว่างค่าพีเอชตั้งแต่ 4 ถึง 6 แอนโทไซยานินจะมีสีเหลืองอยู่เล็กน้อยเนื่องจากปริมาณของรูปที่มีสี คือ รูป Flavylium และรูป Anhydrobase มีอยู่น้อยมาก สมดุลระหว่างรูปที่มีทั้ง 2 นี้พบว่าค่า pK เท่ากับ 3.38 ± 0.15 นอกจากนี้ยังพบว่ารูป Chalcone ที่ไม่มีสีจะเริ่มเกิดขึ้นเมื่อรูป Flavylium มีความเข้มข้นประมาณ 9.54×10^{-4} M และค่า pK ของ Tautomeric equilibrium รูป Pseudobase ไปเป็น รูป Chalcone มีค่าประมาณ 0.16



รูปที่ 2.11 กราฟแสดงการกระจายของสปีชีส์ต่าง ๆ ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 0 ถึง 6 ของสารประกอบ Cyanidin-3,5-diglucoside โดยที่ AH⁺ คือ รูป Flavylium Cation , A คือ รูป Quinonoidal Anhydrobase , B คือ รูป Carbinol Pseudobase และ C คือ รูป Chalcone

ในกรณีของ Acylated anthocyanin รูป Quinonoidal anhydrobase ที่เกิดขึ้นจะมีความเสถียรมากเนื่องจากเกิด Intramolecular co-pigmentation ถ้าหากเป็นพวก Diacylated หรือพวก Polyacylated จะมีเสถียรภาพที่ดีจะจะไม่เปลี่ยนแปลงไม่ว่าค่าพีเอชจะเปลี่ยนแปลงไปเท่าไรก็ตาม²⁴ อันเป็นผลมาจาก Intramolecular copigmentation ในลักษณะซ้อนเป็นชั้นเหมือนแซนด์วิชของส่วนที่เป็นวงอะโรมาติกในหมู่ Acyl กับตัววง Pyrylium ของแอนโทไซยานิน ดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.12 รูปแสดงแบบจำลองการเกิด Stacking ของหมู่ Acyl ที่เป็น Caffeoyl 2 หมู่กับ Pyrylium nucleus

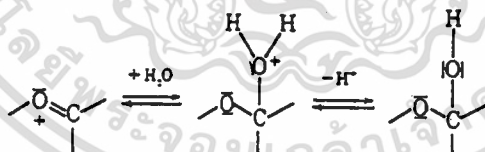
เสถียรภาพที่เพิ่มขึ้นนี้ดีกว่าในกรณีของ Monoacylated มากซึ่งจุดนี้ชี้ให้เห็นว่าการที่สีจะมีเสถียรภาพและคงอยู่ในสารละลายที่เป็นกลางหรือกรดเล็กน้อยได้จึงจำเป็นต้องมีหมู่ Acyl อย่างน้อย 2 หมู่ นอกจากนี้ชนิดของกรดที่เป็นหมู่ Acyl ก็มีผลด้วย พบว่าหมู่ Acyl ที่เป็น *p*-Coumaric acid จะทำให้มีเสถียรภาพไม่ด้อยไปกว่าหมู่ Acyl ที่เป็น Caffeic acid²⁴

เอื้ออำนวยต่อการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

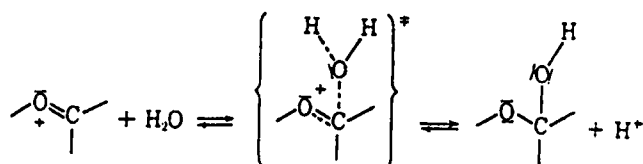
แอนโทไซยานินที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติพบว่าโดยปกติที่ค่า pK ของสมดุลระหว่างรูป Flavylium cation กับรูป Quinonoidal base จะมีค่าประมาณ 3.36 ถึง 4.85²⁴ โดยรูป Flavylium cation จะประพฤติตัวเป็นกรดอ่อนในขณะที่รูป Neutral quinonoidal base จะเป็นทั้งกรดอ่อนและเบสอ่อนในเวลาเดียวกัน

หมู่ไฮดรอกซีที่คาร์บอนตำแหน่ง 4', 7 และ 5 (ถ้ามี) ซึ่งแสดงสมบัติเป็นกรดสามารถเกิดการสูญเสียโปรตอนได้ทำให้เกิดรูป Ionized Quinonoidal base ที่ pH สูงกว่า 6 (รูปที่ 2.10) ซึ่งจะทำให้เกิด Bathochromic shift และ Hyperchromic shift อันเป็นผลทำให้ผลไม้ ดอกไม้และส่วนประกอบอื่น ๆ ของพืชที่มีแอนโทไซยานินสะสมอยู่มีสีส้ม

การเกิดปฏิกิริยาไฮเดรชันของ Flavylium cation ไปเป็นรูป Carbinol pseudobase ที่ไม่มีสี ส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นที่ค่าที่เลขตั้งแต่ 3 ถึง 6 และมีค่า pK ประมาณ 2.0 ถึง 3.0²⁴ โดยกลไกของปฏิกิริยาเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเติมแบบ Nucleophilic ของน้ำ ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 4 (พบน้อยกว่า) : เพราะเป็นจุดที่มี Partial positive charge สูงที่สุด ได้ผลิตภัณฑ์เป็นรูป Protonated Carbinol (ซึ่งเป็นรูปที่ไม่เสถียรอย่างมาก) จากนั้นจะเกิดการถ่ายเทโปรตอน (Proton transfer) ให้กับโมเลกุลของตัวทำละลายโดยการแตกพันธะของ Hydroxy group ที่ C-O ดังรูปที่ 2.13 หรือกลไกอาจเกิดไปพร้อม ๆ กันก็ได้โดยไม่มี Intermediate state ดังรูปที่ 2.14 โดยลักษณะกลไกของการเปลี่ยนรูปจาก Flavylium cation ไปเป็น Carbinol นี้พบว่ามีคล้ายคลึงกับปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสของ Hemiacetals , Acetals , Ketals และ Ortho ester เช่นเดียวกับปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสของ N,O-trimethylenephthalimidium cation⁴



รูปที่ 2.13 รูปแสดงกลไกของปฏิกิริยาไฮเดรชันของ Flavylium Cation ให้ผลิตภัณฑ์เป็น Carbinol Base โดยเกิดผ่านรูป Protonated Carbinol



รูปที่ 2.14 รูปแสดงกลไกของปฏิกิริยาไฮเดรชันของ Flavylium Canon ให้ผลิตภัณฑ์เป็น Carbinol Base โดยไม่มี Intermediate state

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่อุณหภูมิห้องในสารละลายที่มีน้ำเป็นหลักและมีความเป็นกรดเล็กน้อย จะมีการเปลี่ยนรูปเป็น Chalcone น้อยมาก เพราะค่า Tautomeric equilibrium constant มักจะมีค่าต่ำกว่า 1 แต่เนื่องจากปฏิกิริยา Cation Deprotonation ด้วยตัวทำละลาย (Flavylium cation \rightarrow Anhydrobase \rightarrow Ionized anhydrobase) เป็นปฏิกิริยาคายความร้อน ในขณะที่ปฏิกิริยา Cation hydration (Flavylium cation \rightarrow Carbinol base) และปฏิกิริยาการเปิดออกของ Pyrylium ring ได้เป็น Chalcone เป็นปฏิกิริยาคูดความร้อน อีกทั้งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่ทำให้ Entropy เพิ่มขึ้น ดังนั้นการเกิด Chalcone จึงมักจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ ดังนั้นการแช่เย็นหรือทำ Acidification รูป Anhydro base และรูป Carbinol base จะทำให้การเกิด Chalcone ช้าลง

รูป Chalcone ที่เกิดขึ้นที่เกิดจากปฏิกิริยาการเปิดวงของรูป Carbinol จะสามารถเกิดกระบวนการไอโซเมอไรเซชัน (Isomerization process) เกิดเป็นสมดุลระหว่างรูป *cis* และ *trans* ได้และเมื่อค่าพีเอชสูงเพียงพอแล้วจะเกิดเป็น Anionic chalcone ซึ่งมีสีเหลืองต่อไป

จากคุณสมบัติการเปลี่ยนแปลงของ Anthocyanin ตามค่าพีเอชดังที่กล่าวมาแล้วได้มีผู้สนใจนำมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบสบ้าง โดย Grube และคณะ³³ คาดว่าสารสกัดจากกะหล่ำปลีสีม่วงสามารถนำมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์ได้ดีเฉพาะในช่วง 8.5 ถึง 10.0 และจากการศึกษาการเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงที่พีเอชต่าง ๆ โดยดูจาก Absorption peak ที่ค่า pH ต่าง ๆ ของ Wolf³⁶ พบว่าสารที่สกัดได้มีความสามารถในการใช้เป็น Universal pH indicator ได้ แต่การนำแอนโทไซยานินมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์ยังคงจำกัดอยู่แต่เพียงการนำไปใช้ในการสอนและทำเป็นปฏิบัติการเกี่ยวกับสมดุลและปฏิกิริยากรด-เบสในห้องเรียนเท่านั้น³⁸

บทที่ 3

การวิจัยและการดำเนินการ

สารเคมีและอุปกรณ์

3.1 สารเคมีและวัสดุธรรมชาติ

- กะหล่ำปลีสีม่วง ซื้อตามท้องตลาดทั่วไปโดยซื้อจากแหล่งเดียวกันตลอดการทดลอง
- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid) เกรดงานวิเคราะห์ ; J.T. Baker
- โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (Potassium Hydrogenphthalate) เกรดงานวิเคราะห์ ; Carlo Erba
- เอมีลแอลกอฮอล์ (Amyl Alcohol) เกรดปฏิบัติการ ; May & Baker
- เอทานอล (Ethanol ; Absolute) เกรดงานวิเคราะห์ ; Carlo Erba
- เมทานอล (Methanol ; Absolute , low acetone) เกรดงานวิเคราะห์ ; J.T. Baker
- ซีไลต์ 545 (Celite 545) : particle size = 20 - 45 μ m ; Fluka
- คลอโรฟอร์ม (Chloroform) เกรดงานวิเคราะห์ ; J.T.Baker
- ไดเอทิลอีเทอร์ (Diethyl ether , purified) เกรดงานวิเคราะห์ ; J.T.Baker
- แก๊สไนโตรเจน เกรดอุตสาหกรรม ; บริษัท ไทยอินดัสเตรียลแก๊ส จำกัด (มหาชน)
- โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium Hydroxide) เกรดงานวิเคราะห์ ; Carlo Erba
- กรดซิตริก (Citric acid monohydrated) เกรดงานวิเคราะห์ ; Merck
- กรดทาร์ทาริก (L (+) Tartaric acid) เกรดงานวิเคราะห์ ; Carlo Erba
- กรดไตรฟลูออโรอะซิติก (Trifluoroacetic acid) เกรดงานวิเคราะห์ ; Fluka
- โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium Chloride) เกรดงานวิเคราะห์ ; Fluka
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide) เกรดงานวิเคราะห์ ; Eka Nobel
- ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต (di-Sodium Hydrogenorthophosphate) เกรดงานวิเคราะห์ ; Carlo Erba

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium Chloride) เกรดงานวิเคราะห์ ; Carlo Erba
- สารละลายแอมโมเนีย (Ammonia Solution) เกรดงานวิเคราะห์ ; Carlo Erba
- บรอมครีซอลกรีน (Bromcresol Green indicator) เกรดงานวิเคราะห์ ; Merck
- บรอมไทมอลบลู (Bromthymol Blue indicator) เกรดงานวิเคราะห์ ; Merck
- บรอมฟีนอลบลู (Bromphenol Blue indicator) เกรดปฏิบัติการ
- ไทมอลบลู (Thymol Blue indicator) เกรดงานวิเคราะห์ ; Carlo Erba
- เมทิลเรด (Methyl Red indicator) เกรดงานวิเคราะห์ ; Carlo Erba
- ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein indicator) เกรดงานวิเคราะห์ ; Carlo Erba
- สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 4 สำหรับเทียบมาตรฐานมาตรฐานความเป็นกรด-เบส (Buffer Solution ; Biphthalate , pH 4) ; J.T.Baker
- สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7 สำหรับเทียบมาตรฐานมาตรฐานความเป็นกรด-เบส (Buffer Solution ; Phosphate , pH 7) ; J.T.Baker

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- เครื่องชั่งความละเอียด 1 ตำแหน่ง รุ่น PT 120 ; Sartorius
- เครื่องชั่งความละเอียด 4 ตำแหน่ง รุ่น AC 2105 ; Sartorius
- เครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV/Vis Spectrophotometer) model 7800 ; Jasco ซึ่งแสดงผลด้วย CRT monitor รุ่น CRT-40K Color display Unit และต่อพ่วงกับเทอร์มอลพลอตเตอร์ (Thermal Plotter) รุ่น PTL396S ; Jasco
- เครื่องยูวีวิสิเบิลเรคอร์ดดิ้งสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Recording Spectrophotometer) รุ่น UV-160 ; Shimadzu
- ควอตซ์เซลล์ (Quartz cell) optical path 10 mm ขนาด 12.5 × 12.5 × 45H พร้อมด้วยฝาเทฟลอน (Teflon cap)
- เครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary Evaporator) รุ่น RE 111 Rotavapor ใช้ประกอบกับเครื่องอ่างน้ำ (Water Bath) รุ่น Büchi 461 ; Büchi และเครื่องควบคุมอุณหภูมิ รุ่น Cool ACE CA-111 ; EYELA
- มอเตอร์ปั่นกวน (Mechanical Stirrer) รุ่น Euro-ST13 ประกอบกับใบพัดแบบสมอเรือ ; IKA Labortechnik Staufen
- เครื่องปั่นกวนด้วยแท่งแม่เหล็ก (Magnetic Stirrer) รุ่น M21/1 ; Framo® -

Gerätetechnik

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กระดาษยูนิเวอร์ซัลอินดิเคเตอร์ ช่วงพีเอช 1 - 14 (Universal Indicator paper) ; Whatman
- มาตรฐานความเป็นกรด-เบส (pH meter) รุ่น pH meter 654 ใช้ประกอบกับขั้ว
กลาสแบบขั้วรวม (Combined pH glass electrode) รุ่น 6.0202.000 QF ;
Metrohra
- กระดาษกรองเบอร์ 1 (Filter paper No.1 , Qualitative) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง
70 มิลลิเมตร ; Whatman
- กระดาษกรองเบอร์ 40 (Filter paper No. 40 , Ashless) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง
70 มิลลิเมตร ; Whatman
- กระดาษกรองเบอร์ 42 (Filter paper No. 42 , Ashless) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง
70 มิลลิเมตร ; Whatman
- แผ่นพาราฟิล์ม (Parafilm) ; American National Can
- เครื่องดูดอากาศออกโดยใช้น้ำ (Water aspirator) รุ่น A-3S ; EYELA
- ตู้แช่เย็น
- บริษัทพื้นฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ เครื่องแก้ว บริษัท
พลาสติก และบริษัทฟอร์ซีเลน

3.3 ขั้นตอนการดำเนินการ

3.3.1 การศึกษาหาตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดที่ทำให้เกิดการขจัดหมู่เอซิลน้อยที่สุด การวิจัยในส่วนนี้จะทำการสกัดสารประกอบแอนโทไซยานินออกจากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้สารละลายกรดอินทรีย์ในเมทานอลเข้มข้น 1% เป็นตัวทำละลาย ซึ่งกรดที่ใช้มีอยู่ 3 ชนิด ได้แก่ กรดซิตริก (Citric acid) กรดทาร์ทาริก (Tartaric acid) และกรดไตรฟลูออโรแอซิดิก (Trifluoroacetic acid) สารที่สกัดได้ในแต่ละระบบตัวทำละลายจะถูกนำมาทำปฏิกิริยาแอลคาไลน์ไฮโดรไลซิส (Alkaline Hydrolysis) เพื่อให้แอนโทไซยานินเกิดดีเอซิลเลชัน (Deacylation) แล้วทำการสกัดแยกเอาอนุพันธ์ของกรดไฮดรอกซีซินนามิก (Hydroxycinnamic acid) ออกมา จากนั้นจะทำการหาปริมาณกรดที่หลุดออกมานี้อย่างคร่าว ๆ โดยใช้การวัดค่าแอบซอร์เบ้นซ์ (Absorbance) ค่าที่ได้นี้จะถูกนำมาเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการสกัดแอนโทไซยานินโดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid) ในเมทานอลเข้มข้น 1% ซึ่งวิธีดำเนินการทั้งหมดในส่วนนี้มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก) การเตรียมสารละลายกรดชนิดต่าง ๆ ในเมทานอลเข้มข้น 1%

1. สารละลายกรดซัลฟิวริกในเมทานอลเข้มข้น 1 % เตรียมโดยละลายกรดซัลฟิวริก 12.3361 กรัมด้วยเมทานอลจนได้สารละลายมีปริมาตร 800 มิลลิลิตร
2. สารละลายกรดทาร์ทาริกในเมทานอลเข้มข้น 1 % เตรียมโดยละลายกรดทาร์ทาริก 14.0780 กรัมด้วยเมทานอลจนได้สารละลายมีปริมาตร 800 มิลลิลิตร
3. สารละลายกรดไทโรฟลูออโรแอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 % และสารละลายกรดไฮโดรคลอริกในเมทานอลเข้มข้น 1 % เตรียมโดยเปิดกรดเข้มข้น 8 มิลลิลิตร แล้วเติมเมทานอลลงไปจนสารละลายมีปริมาตร 800 มิลลิลิตร

ข) วิธีการสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง

1. ผ่ากะหล่ำปลีสีม่วงออกเป็นสี่ส่วน ตัดแกนออก ล้างให้สะอาด แล้วนำมาประมาณ 200 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร เติมหั่นทำละลาย 200 มิลลิลิตร
2. ทำการปั่นกวนด้วยมอเตอร์ปั่นกวนโดยใช้อัตราปั่นกวนเท่ากับ 300 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 5 นาที แล้วเติมหั่นทำละลายลงไปเพิ่มอีก 30 มิลลิลิตร ปั่นต่ออีก 5 นาที
3. ใช้หั่นทำละลายประมาณ 20 มิลลิลิตรล้างใบพัดแล้วหุ้มปิดปากบีกเกอร์ด้วยแผ่นพาราฟิล์มนำไปเก็บในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิประมาณ -1°C ทำการหมักไว้เช่นนี้ 24 ชั่วโมง
4. นำมากรองแบบลดความดันโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 และใช้หั่นทำละลายล้างในบีกเกอร์และที่ติดบนกรวยให้สะอาด เก็บรวบรวมสารที่สกัดได้จนมีปริมาตร 450 มิลลิลิตร แล้วปรับให้ครบด้วยหั่นทำละลายที่ใช้ในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร (ใช้หั่นทำละลายล้างในขวดรูปกรวยที่รองรับสารจนหมดสีแดงก่อนแล้วจึงทำการปรับปริมาตรให้ครบ)
5. นำสารที่สกัดได้มาเติมซีลิต (Celite) ในอัตราส่วน 1 กรัมต่อสารที่สกัดได้ 100 มิลลิลิตร ทำการปั่นกวนโดยใช้แท่งแม่เหล็ก (อัตราปั่นกวน = 300 รอบต่อนาที) นานประมาณ 2 นาที แล้วกรองแบบลดความดันโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 40
6. ถ่ายสารที่ได้ลงในขวดแก้วสีชาที่มีฝาปิดสนิท แล้วเก็บในตู้เย็นไว้ใช้ตลอดการทดลอง

ค) การทดสอบสารที่สกัดได้ว่าเป็นแอนโทไซยานินชนิดแอนซีเลคหรือไม

1. นำสารที่สกัดได้มา 3 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 7 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. นำมาสกัดด้วยเอมิลแอลกอฮอล์ (Amyl Alcohol) 1 ครั้ง 10 มิลลิลิตร เก็บชั้นแอลกอฮอล์ไว้

3. เตรียมสารเหมือนข้อ 1. อีกครั้ง แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 20 % ที่ร้อนลงไป จนกระทั่งเป็นสีเขียวอมเหลือง นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลาประมาณ 15 วินาที แล้วนำมาเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) จนมีสีเหมือนกับก่อนที่จะเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์แล้วเติมเกินไปอีก 1 - 2 หยด ตั้งทิ้งไว้ 15 วินาทีแล้วนำมาสกัดด้วยเอมิลแอลกอฮอล์เหมือนกับข้อ 2.

4. นำสีของชั้นแอลกอฮอล์ที่ได้จากข้อ 2 และ ข้อ 3 มาเปรียบเทียบกับถ้าเป็นแอนโทไซยานินชนิดแอสีเลต สีของชั้นแอลกอฮอล์ที่ได้จากข้อ 3 จะต้องอ่อนกว่ามากหรืออาจไม่มีสีเลย แต่ถ้าไม่ใช่ สีของชั้นแอลกอฮอล์จะไม่เปลี่ยนแปลง

ง) การนำสารที่สกัดได้มาทำดีเอซิลเลชัน (Deacylation)

1. นำสารที่กรองแล้วประมาณ 200 มิลลิลิตรมาทำให้เข้มข้นขึ้นประมาณ 5 เท่า โดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary Evaporator) ซึ่งจะตั้งอุณหภูมิของเครื่อง-อ่างน้ำ (Water Bath) ไว้ประมาณ 37 °C

2. นำสารที่ผ่านการทำให้เข้มข้นขึ้นแล้ว มาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม (Chloroform) 2 ครั้ง ๆ ละ 30 มิลลิลิตร (ทั้งชั้นคลอโรฟอร์ม) และสกัดต่อด้วยไดเอทิลอีเทอร์ (Diethyl ether) 2 ครั้ง ๆ ละ 30 มิลลิลิตร (ทั้งชั้นอีเทอร์)

3. นำสารที่ได้มาใส่ในขวดสีชาขนาดเล็ก 2 ขวด ๆ ละ 5 มิลลิลิตร ฟันด้วยก๊าซไนโตรเจนจนทั่วนานประมาณ 30 วินาที จากนั้นเติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 % ลงไป ขวดละ 10 มิลลิลิตร ฟันก๊าซไนโตรเจนต่อจนทั่วอีกประมาณ 15 วินาที แล้วรีบปิดฝาให้สนิทเก็บในลิ้นชักที่มีอุณหภูมิประมาณ 2 ชั่วโมง

4. เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดแล้ว นำมาเติมสารละลายกรดเข้มข้น 1 % โดยใช้กรดชนิดใดสกัดก็ใช้สารละลายของกรดชนิดนั้น (ซึ่งสารละลายกรดเข้มข้น 1 % นี้เตรียมเหมือนกับสารละลายกรดในขั้น ก) เพียงแต่ใช้น้ำกลั่นแทนเมทานอล) เติมจนสารละลายมีค่าพีเอชประมาณ 6 (วัดโดยใช้กระดาษยูนิเวอร์ซัลอินดิเคเตอร์)

5. นำสารละลายที่ปรับค่าพีเอชแล้วมาสกัดด้วยไดเอทิลอีเทอร์ 2 ครั้ง ๆ ละ 50 มิลลิลิตร เก็บรวบรวมชั้นอีเทอร์ไว้ แล้วใช้อีเทอร์อีก 15 มิลลิลิตรเพื่อล้างกรวยแยก

6. นำชั้นอีเทอร์ไประเหยจนแห้งโดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุน

7. ใช้เอทานอล 10 มิลลิลิตรเติมลงไปละลายสิ่งที่เหลือจากการระเหย

ให้ทั่วกรองของเหลวที่ได้โดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 42 แล้วเก็บในไวแอล (vial) ที่มีฝาปิดสนิท เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตเห็นาไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการหุ้มด้วยพาราฟิล์มอีกชั้น จากนั้นนำไปวัดสเปกตรัม หาพื้นที่ใต้กราฟ และวัดค่าแอบซอร์-
แบนซ์ด้วยเครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) โดยในการ
วัดสเปกตรัมจะใช้พารามิเตอร์ดังนี้

- Photometric Mode : Absorbance
- Start Wavelength : 800.0 nm
- End Wavelength : 200.0 nm
- Scan Speed : 2400 nm/min
- Cycle No. and Time : 1

สำหรับการหาค่าพื้นที่ใต้กราฟจะทำการอินทิเกรตกราฟในช่วง
ความยาวคลื่นตั้งแต่เท่า 326 นาโนเมตรถึง 310 นาโนเมตร และในการวัดค่าแอบซอร์แบนซ์จะ
ทำการวัดที่ค่าความยาวคลื่นเท่ากับ 326 , 325 , 324 และ 310 นาโนเมตร

8. เพื่อเป็นการยืนยันข้อมูลที่ได้จึงทำ Bathochromic shift โดยเติม
สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) เข้มข้น 5 % ลงไปในสารตัวอย่าง โดยใช้
1 หยดต่อการวัดสารด้วยเซลล์ขนาด 1 เซนติเมตร แล้วทำการวัดสเปกตรัม หาพื้นที่ใต้กราฟ และ
วัดค่าแอบซอร์แบนซ์ โดยการวัดสเปกตรัมจะใช้พารามิเตอร์เดิมแต่การหาพื้นที่ใต้กราฟจะทำการ
อินทิเกรตกราฟในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 350 ถึง 335 นาโนเมตรแทน และจะทำการวัดค่าแอบ-
ซอร์แบนซ์ที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 350 , 344 และ 335 นาโนเมตร

3.3.2 การนำสารประกอบแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงมาประยุกต์ใช้

เป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส การวิจัยในส่วนนี้จะนำสารประกอบแอนโทไซยานินที่สกัดออกมา
จากกะหล่ำปลีสีม่วงมาศึกษาหาช่วงการเปลี่ยนสีและทดลองนำมาใช้ในปฏิกิริยาไทเทรตกรด-เบส
ลักษณะต่าง ๆ โดยจะนำมาเปรียบเทียบความถูกต้องในการบอกค่าจุดยุติกับอินดิเคเตอร์กรด-เบส
ที่ใช้กันอยู่ทั่วไปในปฏิกิริยาการไทเทรตลักษณะนั้น ๆ ซึ่งความถูกต้องในการบอกจุดยุติจะดูจาก
ค่าอินดิเคเตอร์แบลนค์ (Indicator Blank) และค่าความผิดพลาดของการไทเทรต (Titration Error)
ขั้นตอนการดำเนินการในส่วนนี้มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ก) การศึกษาหาช่วงการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสี-
ม่วง เนื่องจากว่าเราต้องการจะนำแอนโทไซยานินมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส ดังนั้นจึงไม่
สามารถสกัดโดยใช้ระบบปกติทั่วไป คือ สารละลายกรดในแอลกอฮอล์ได้ ต้องเปลี่ยนมาใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระบบที่เป็นกลางซึ่งในการวิจัยครั้งนี้จะใช้ตัวทำละลาย 5 ระบบ ได้แก่ น้ำ สารละลายเอทานอล เข้มข้น 50 % สารละลายเมทานอลเข้มข้น 60 % สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride) เข้มข้น 4 M และ ของผสมระหว่างเมทานอลกับไดเอทิลอีเทอร์อัตราส่วน 1 : 1 แต่ก็นำระบบ สารละลายกรดในแอลกอฮอล์มาใช้ด้วย 1 ระบบ คือ สารละลายกรดไทรฟลูออโรแอซิดิกในเมทานอล ซึ่งเป็นระบบที่ดีที่สุดจากผลการทดลองในตอนที่ 1 เพื่อที่จะดูว่าช่วงเปลี่ยนสีของสาร แตกต่างจากระบบที่เป็นกลางมากน้อยเพียงใด

การหาช่วงการเปลี่ยนสีจะใช้หลักที่ว่า “การเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์จากรูปกรด ไปเป็นรูปเบสจะเกิดในช่วงค่า $pH = pK_a \pm 1$ ” นั่นคือจะต้องทำการหาค่า pK_a ก่อนโดยจะใช้วิธี สร้าง French Curve รายละเอียดของการทดลองในส่วนนี้มีดังนี้

1. ทำการสกัดแอนโทไซยานินโดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นกลาง โดยผ่า กะหล่ำปลีสีม่วงออกเป็นสี่ส่วน ตัดแกนออก สับให้ละเอียด แล้วนำมาประมาณ 70 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร เติมตัวทำละลายลงไป 210 มิลลิลิตร ปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระดาษกรองและนำไปแช่ในเครื่องอังน้ำ ซึ่งตั้งอุณหภูมิไว้ $50^{\circ}C$ ยกเว้นระบบที่เป็นของผสม เมทานอลกับอีเทอร์จะไม่แช่ในเครื่องอังน้ำ ทำการหมักไว้ประมาณ 1.5 ชั่วโมงโดยมีการคนเป็นช่วง ๆ เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วจึงกรองสารแบบลดความดันโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารที่ได้ในขวดสีชาที่มีฝาปิดสนิท และเก็บในตู้เย็นจนกว่าจะนำมาใช้งาน

2. ทำการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชต่าง ๆ ตั้งแต่ 1 ถึง 14 โดยช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 2 จะใช้สารละลายบัฟเฟอร์ระบบโพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride) กับกรดไฮโดรคลอริก ช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 2.2 ถึง 7.8 จะใช้ McIlvaine's Buffer ช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 8.0 ถึง 10.0 จะใช้สารละลายบัฟเฟอร์แอมโมเนีย โดยที่วิธีการเตรียมทั้ง 3 ระบบจะยึดตามเอกสารอ้างอิงหมายเลข 6 สำหรับช่วงพีเอชตั้งแต่ 10.2 ถึง 10.8 จะใช้ สารละลายบัฟเฟอร์ระบบโซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium bicarbonate) กับโซเดียมไฮดรอกไซด์ ช่วงพีเอชตั้งแต่ 11.0 ถึง 11.8 จะใช้สารละลายบัฟเฟอร์ระบบไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Disodium hydrogenphosphate) กับโซเดียมไฮดรอกไซด์ และช่วงพีเอชตั้งแต่ 12.0 ถึง 13.0 จะใช้สารละลายบัฟเฟอร์ระบบโพแทสเซียมคลอไรด์กับโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งวิธีการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ 3 ระบบหลังนี้จะทำตาม Handbook of Chemistry & Physics ; student edition

3. หาช่วงการเปลี่ยนสีคร่าว ๆ เพื่อจะได้รู้ว่ารูปกรดและรูปเบสของสาร จะมีค่าพีเอชเท่าใด โดยนำสารที่สกัดได้ในแต่ละระบบมาใส่หลอดทดลองขนาดกลาง หลอดละ 2 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอช 1 ถึง 13 ลงไป (โดยเพิ่มค่าพีเอชขึ้นทีละ 1.0) ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาทีแล้วนำมาวัดสเปกตรัมหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าแอมพลิจูดมากที่สุด และค่าพีเอชของสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. จากข้อ 3 จะทำให้ทราบคร่าว ๆ ว่ารูปกรดและรูปเบสในระบบตัวทำละลายที่ใช้สกัดนั้น ๆ จะแสดงให้เห็นที่ค่าพีเอชเท่าใด จากนั้นก็เตรียมสารที่สกัดได้ดังข้อ 3 แต่จะปรับค่าพีเอชด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชที่ทำให้อยู่ในรูปกรดและรูปเบสแล้วนำไปวัดสเปกตรัม หากค่าความยาวคลื่นที่ทำให้รูปกรดและรูปเบสมีค่าแอมซอร์เบนซ์ต่างกันมากที่สุด

5. เมื่อทราบค่าความยาวคลื่นที่ต้องการแล้ว ทำการเตรียมสารตัวอย่าง โดยปรับค่าพีเอชของสารให้อยู่ในช่วงระหว่างพีเอชของรูปกรดและรูปเบส (เตรียมประมาณ 4 ถึง 6 ค่าพีเอช) แล้วนำสารตัวอย่างที่ปรับพีเอชแล้วและสารละลายของสารตัวอย่างทั้งรูปกรดและรูปเบส มาวัดค่าแอมซอร์เบนซ์ที่ค่าความยาวคลื่นที่ได้ และทำการวัดค่าพีเอชของสารละลายด้วย

6. นำมาสร้าง French Curve โดยค่าของแกนนอน (แกน X) คือ ค่าพีเอชของสารละลาย และค่าของแกนตั้ง (แกน Y) คือ ค่า $\log [(A - A_{\text{รูปกรด}}) / (A_{\text{รูปเบส}} - A)]$ โดยจะได้กราฟเส้นตรง จุดตัดแกนนอน คือ ค่า pK_{In} ซึ่งทำให้เราทราบช่วงการเปลี่ยนของอินดิเคเตอร์ได้

ข) การนำแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงมาประยุกต์ใช้ในการไทเทรตกรด-เบสลักษณะต่าง ๆ ในการวิจัยครั้งนี้จะนำแอนโทไซยานินที่สกัดได้มาใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรด-เบสทั้ง 4 ลักษณะ คือ กรดแก่-เบสแก่, กรดอ่อน-เบสแก่, กรดแก่-เบสอ่อน และกรดอ่อน-เบสอ่อน โดยสารที่สกัดได้จะนำมาใช้เพียง 2 ระบบเท่านั้น คือ ระบบที่สกัดด้วยน้ำ กับสารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % เพราะเป็นตัวทำละลายส่วนใหญ่ที่ใช้ในการเตรียมสารละลายอินดิเคเตอร์ รายละเอียดของการวิจัยในส่วนนี้เป็นดังนี้

การนำแอนโทไซยานินมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในปฏิกิริยาไทเทรตระหว่างกรดไฮโดรคลอริกกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปฏิกิริยาการไทเทรตระหว่างกรดแก่-เบสแก่ที่เลือกมาใช้คือ ปฏิกิริยาไทเทรตระหว่างกรดไฮโดรคลอริกกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ อินดิเคเตอร์ที่นิยมใช้กัน คือ ฟีนอล์ฟทาเลิน (Phenolphthalein) ซึ่งจะนำมาใช้เป็นตัวเปรียบเทียบกับสารที่สกัดได้ ขั้นตอนการทดลองเป็นดังนี้

1. เตรียมอินดิเคเตอร์ฟีนอล์ฟทาเลิน วิธีการเตรียมยึดตามเอกสารอ้างอิงหมายเลข 26

2. เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 M (โดยประมาณ) เตรียมโดยตวงกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นมา 9 มิลลิลิตรด้วยกระบอกตวง เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร ซึ่งมีน้ำกลั่นอยู่แล้วประมาณ 500 มิลลิลิตร ล้างกระบอกตวงสองสามครั้งด้วยน้ำกลั่นแล้วเทรวมลงไปในขวดวัดปริมาตร แล้วปรับปริมาตรจนครบด้วยน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นประมาณ 0.1 M โดยชั่งมาประมาณ 1 กรัมละลายด้วยน้ำกลั่นที่ต้มเดือดแล้วเทลงขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรจนครบด้วยน้ำกลั่นที่ต้มเดือดแล้ว

4. ทำการเทียบมาตรฐานสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เตรียมได้ในข้อ 3 โดยชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตซึ่งอบที่อุณหภูมิ 120°C นาน 2 ชั่วโมงแล้วมา 0.15 กรัม (ต้องทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ในขวดรูปกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดฝา น้ำกลั่นที่ต้มเดือดแล้วมา 15 มิลลิลิตร เขย่าขวดจนละลายหมดแล้วนำมาไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เตรียมได้ในข้อ 3 ซึ่งบรรจุอยู่ในบิวเรต โดยหยดฟีนอล์ฟทาลีน 2 หยด

5. ทำการไทเทรตแบบโพเทนชิอเมตริก (Potentiometric Titration) โดยใช้สารละลายกรดที่เตรียมได้ในข้อ 2 20 มิลลิลิตร ในการไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เทียบมาตรฐานแล้วซึ่งบรรจุอยู่ในบิวเรต แล้วคำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดไฮโดรคลอริกด้วย

6. ทำการไทเทรตแบบปกติโดยใช้อินดิเคเตอร์ฟีนอล์ฟทาลีน โดยใช้สารละลายกรด 20 มิลลิลิตรเช่นกัน และใช้อินดิเคเตอร์ 2 หยด

7. ทำการไทเทรตแบบปกติโดยใช้แอนโทไซยานินที่สกัดโดยใช้น้ำและสารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % แทนในการทดลองใช้สารที่สกัด 10 หยด เนื่องจากสารที่สกัดไม่ได้ทำให้เข้มข้นขึ้นเพราะคาดว่าความร้อนจะทำให้โครงสร้างเกิดการเปลี่ยนแปลงจากนั้นนำผลที่ได้จากข้อ 5, 6 และ 7 ไปคำนวณหาค่าอินดิเคเตอร์เบสنگ์ และ เปรูเซ็นต์ความผิดพลาดของการไทเทรต

การนำแอนโทไซยานินมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในปฏิกิริยาไทเทรตระหว่างกรดแอสติก (Acetic acid) กับโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปฏิกิริยาการไทเทรตระหว่างกรดอ่อน-เบสแก่ที่เลือกมาใช้คือ ปฏิกิริยาไทเทรตระหว่างกรดแอสติกกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปกติแล้วอินดิเคเตอร์ที่ใช้กัน คือ ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein) แต่ในการศึกษานี้จะนำทมอลบลู (Thymol blue) และ บรอมทมอลบลู (Bromthymol blue) มาใช้เป็นตัวเปรียบเทียบกับสารที่สกัดด้วยเพราะอยู่ในช่วงที่อินดิเคเตอร์เหล่านี้เปลี่ยนรูปด้วย ซึ่งขั้นตอนการทดลองเป็นดังนี้

1. เตรียมอินดิเคเตอร์ฟีนอล์ฟทาลีน โดยวิธีการเตรียมเหมือนกับที่กล่าวไว้แล้ว

2. เตรียมอินดิเคเตอร์ทมอลบลู และบรอมทมอลบลู โดยวิธีการเตรียมยึดตามเอกสารอ้างอิงหมายเลข 6

3. เตรียมสารละลายกรดแอสติกเข้มข้น 0.1 M (โดยประมาณ)

เตรียมโดยชั่งกรดแอสติกกลั่น (Glacial acetic acid) ประมาณ 8 กรัม ใส่ในขวดรูปกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรจนครบด้วยน้ำกลั่นที่ต้มเดือดแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารทูลงเรียนเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่หรือใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

250 มิลลิลิตรที่มีจุดปิดสนิท เติมน้ำกลั่นที่ต้มเดือดแล้ว 80 มิลลิลิตร ถ่ายลงขวดวัดปริมาตร ขนาด 1 ลิตร ใช้ น้ำกลั่นที่ต้มเดือดแล้วล้างขวดรูปกรวยสองสามครั้งจนทั่วแล้วเทรวมกันลงขวดวัดปริมาตร ปรับปริมาตรจนครบด้วยน้ำกลั่นที่ต้มเดือดแล้ว

4. เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 M ซึ่งวิธีการเตรียมและการเทียบมาตรฐานได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น

5. ทำการไทเทรตแบบโพเทนชิอเมตริกโดยใช้สารละลายกรดที่เตรียมได้ในข้อ 3 20 มิลลิลิตร ในการไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เทียบมาตรฐานแล้วซึ่งบรรจุอยู่ในบิวเรต แล้วคำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดที่เตรียมได้ด้วย

6. ทำการไทเทรตแบบปกติโดยใช้อินดิเคเตอร์ฟีนอล์ฟทาลีน ไทมอลบลู และบรอมไทมอลบลูโดยใช้สารละลายกรด 20 มิลลิลิตรเช่นกัน และใช้อินดิเคเตอร์ 2 หยด

7. ทำการไทเทรตแบบปกติโดยใช้แอนโทไซยานินที่สกัดโดยใช้น้ำและสารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % แทนซึ่งจะใช้สารที่สกัด 15 หยด และนำผลที่ได้จากข้อ 5 , 6 และ 7 ไปคำนวณหาค่าอินดิเคเตอร์แบลنگ์ และ เปรูเซ็นต์ความผิดพลาดของการไทเทรต

การนำแอนโทไซยานินมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในปฏิกิริยาไทเทรตระหว่างกรดไฮโดรคลอริกกับสารละลายแอมโมเนีย (Aqueous ammonia) ปฏิกิริยาการไทเทรตระหว่างกรดแก่-เบสอ่อนที่เลือกมาใช้คือ ปฏิกิริยาไทเทรตระหว่างกรดไฮโดรคลอริกกับสารละลายแอมโมเนีย ปกติแล้วอินดิเคเตอร์ที่ใช้กัน คือ เมทิลเรด (Methyl red) แต่ในการศึกษานี้จะนำบรอมฟีนอลบลู (Bromphenol blue) และ บรอมครีซอลกรีน (Bromcresol green) มาใช้เป็นตัวเปรียบเทียบกับสารที่สกัดเพราะอยู่ในช่วงที่อินดิเคเตอร์เหล่านี้เปลี่ยนรูปด้วย ซึ่งขั้นตอนการทดลองเป็นดังนี้

1. เตรียมอินดิเคเตอร์เมทิลเรด โดยวิธีการเตรียมจะยึดตามเอกสารอ้างอิงหมายเลข 26

2. เตรียมอินดิเคเตอร์บรอมฟีนอลบลู และบรอมครีซอลกรีน โดยวิธีการเตรียมจะยึดตามเอกสารอ้างอิงหมายเลข 6

3. เตรียมสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0.1 M (โดยประมาณ) เตรียมโดยเปิดสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 30 % มา 7 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตรที่มีน้ำกลั่นอยู่ส่วนหนึ่ง เขย่าให้เข้ากันและปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกลั่น

4. ทำการไทเทรตแบบโพเทนชิอเมตริกโดยใช้สารละลายกรดที่เตรียมได้เหมือนกับที่กล่าวมาแล้วซึ่งรู้ความเข้มข้นที่แน่นอนบรรจุในบิวเรต ไทเทรตกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายแอมโมเนียที่เตรียมได้โดยปีเปตมา 20 มิลลิลิตร และคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียที่เตรียมได้

5. ทำการไทเทรตแบบปกติโดยใช้อินดิเคเตอร์เมทิลเรด , บรอมฟีนอลบลู และ บรอมครีซอลกรีน โดยใช้สารละลายแอมโมเนีย 20 มิลลิลิตรเช่นกัน และใช้อินดิเคเตอร์ 2 หยด

6. ทำการไทเทรตแบบปกติโดยใช้แอนโทไซยานินที่สกัดโดยใช้ น้ำและสารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % แทนซึ่งจะใช้สารที่สกัด 10-15 หยด และนำผลที่ได้จากข้อ 4 , 5 และ 6 ไปคำนวณหาค่าอินดิเคเตอร์เบสจังก์ และ เปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดของการไทเทรต

การนำแอนโทไซยานินมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในปฏิกิริยาไทเทรตระหว่างกรดแอสติกกับสารละลายแอมโมเนีย ปฏิกิริยาการไทเทรตระหว่างกรดอ่อน-เบสอ่อนที่เลือกมาใช้คือ ปฏิกิริยาไทเทรตระหว่างกรดแอสติกกับสารละลายแอมโมเนีย อินดิเคเตอร์ที่นำมาใช้เปรียบเทียบคือ บรอมไทมอลบลู ซึ่งขั้นตอนการทดลองเป็นดังนี้

1. เตรียมอินดิเคเตอร์บรอมไทมอลบลู ซึ่งวิธีเตรียมเหมือนกับที่กล่าวมาแล้ว
2. เตรียมสารละลายกรดแอสติกเข้มข้น 0.1 M (โดยประมาณ) ใช้วิธีการเหมือนกับที่กล่าวมาแล้ว
3. เตรียมสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0.1 M (โดยประมาณ) ใช้วิธีการเตรียมเหมือนกับที่กล่าวมาแล้ว และทำการเทียบมาตรฐานกับกรดไฮโดรคลอริกที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนแล้วโดยใช้เมทิลเรดเป็นอินดิเคเตอร์
4. ทำการไทเทรตแบบโพเทนชิอเมตริกโดยใช้สารละลายกรดที่เตรียมได้ 20 มิลลิลิตร ในการไทเทรตกับสารละลายแอมโมเนียที่เทียบมาตรฐานแล้วซึ่งบรรจุอยู่ในบิวเรต แล้วคำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดที่เตรียมได้ด้วย
5. ทำการไทเทรตแบบปกติโดยใช้อินดิเคเตอร์บรอมไทมอลบลูโดยใช้สารละลายกรด 20 มิลลิลิตรเช่นกัน และใช้อินดิเคเตอร์ 2 หยด

6. ทำการไทเทรตแบบปกติโดยใช้แอนโทไซยานินที่สกัดโดยใช้น้ำและสารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % แทนซึ่งจะใช้สารที่สกัด 15 หยด และนำผลที่ได้จากข้อ 4 , 5 และ 6 ไปคำนวณหาค่าอินดิเคเตอร์แบลงก์ และ เปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดของการไทเทรต



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์

4.1 การศึกษาการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ทำให้เกิดกระบวนการขจัดหมู่เอซิดน้อยที่สุด

4.1.1 ผลการทดสอบชนิดของแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัด

จากการทำการทดลองด้วยวิธีดังที่กล่าวในบทที่ 3 พบว่า สารที่สกัดได้จากตัวทำละลายทุกระบบเป็นแอนโทไซยานินชนิดแอซีเลตจริง จากรูปที่ 4.1 จะเห็นว่าชั้นแอลกอฮอล์มีสีจางลงมากหรือไม่มีสีชมพูเหลืออยู่เลยดังเช่นในระบบที่สกัดโดยใช้กรดทาร์ทาริกในเมทานอลเข้มข้น 1 %



รูปที่ 4.1 ภาพแสดงผลของการตรวจสอบแอนโทไซยานินชนิดแอซีเลตจากสารที่สกัดได้ สารที่สกัดได้ตอนแรกที่ยังไม่ได้ทำการเติมต่างแล้วตั้งจะอยู่ด้านซ้ายมือของแต่ละชุด และระบบตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารซ้ายไปขวา คือ กรดซิทริกในเมทานอล กรดทาร์ทาริกในเมทานอล กรดไทรฟลูออโรแอซิดิกในเมทานอล และกรดไฮโดรคลอริกในเมทานอล

วิจารณ์ผลการทดลอง จากรูปจะสังเกตได้ว่าสารที่สกัดด้วยกรดไทรฟลูออโรแอซิดิกน่าจะสกัดแอนโทไซยานินชนิดแอซีเลตออกมาได้มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับระบบอื่น ๆ ในปริมาณที่เท่ากัน ปริมาณความเข้มข้นที่เปลี่ยนไปอย่างยิ่งเปลี่ยนแปลงมากแสดงว่าในครั้งแรกน่าจะมีแอนโทไซยานินชนิดแอซีเลตมาก เพราะเมื่อเติมต่างและให้ความร้อนจะทำให้เกิดแอซีเลตเอกและเมื่อปรับสภาพให้เป็นกรดอีกครั้งสารสีส่วนใหญ่ที่เหลือจะเป็นแอนโทไซยานินไกลโคไซด์ที่ไม่ไวไฟเป็นแบบแอซีเลตซึ่งมีขั้วมีมากขึ้นจึงสกัดได้ด้วยเอมีลแอลกอฮอล์น้อยลง ดังนั้นอ้างที่กล่าวได้ว่าใช้

ปริมาณการเปลี่ยนแปลงของสีของสารที่สกัดได้น่าจะแปรผัน โดยตรงกับปริมาณแอนโทไซยานิน ชนิดแอนซีเลดที่สกัดได้ด้วย แต่ยังไม่อาจบอกได้แน่นอนเพราะสีของสารประกอบแอนโทไซยานินมีปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวข้อง ซึ่งหนึ่งในปัจจัยนั้นคือ ค่าพีเอช ซึ่งในการทดลองส่วนนี้ไม่ได้มีการปรับค่าพีเอชของสารที่สกัดให้เท่ากันก่อนแล้วนำมาสกัด ความแตกต่างของสีควรจะวัดด้วย เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ มากกว่าคาดคะเนด้วยสายตา แต่การทดลองในส่วนนี้ไม่ได้มีจุดประสงค์เพื่อหาปริมาณของแอนโทไซยานินชนิดแอนซีเลดเพียงแต่ต้องการตรวจสอบว่าสารที่สกัดเป็นแอนโทไซยานินชนิดแอนซีเลดจริงหรือไม่เท่านั้น ซึ่งผลก็ออกมาว่าเป็นจริง

4.1.2 ผลการทดลองนำสารที่สกัดได้มาทำการขจัดหมู่เอซิล (Deacylation)

ผลการทดลองในส่วนนี้จะรายงานเป็นค่าแอมซอร์เบนซ์ของกรดที่เป็นอนุพันธ์ของกรดไฮดรอกซีซินนามิกที่ตรวจวัดได้หลังจากการทำปฏิกิริยาแอลคาไลน์ไฮโดรลิซิสและทำ Bathochromic shift แล้วดังนี้

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงค่าแอมซอร์เบนซ์ของกรดพาราคูมาริก (*p*-Coumaric acid) จากการนำสารที่สกัดได้ในแต่ละตัวทำละลายมาทำการขจัดหมู่เอซิล โดยวัดที่ 310 นาโนเมตร และเมื่อทำ Bathochromic shift จะวัดที่ 335 นาโนเมตร

ระบบตัวทำละลายที่ใช้สกัด	ค่าแอมซอร์เบนซ์ที่ 310 นาโนเมตร		ค่าแอมซอร์เบนซ์ที่ 335 นาโนเมตร	
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2
กรดซัลฟูริกในเมทานอล	1.705	1.852	0.868	1.556
กรดทาร์ทาริกในเมทานอล	2.179	2.219	1.276	0.980
กรดไทรฟลูออโรแอซิดในเมทานอล	2.270	2.254	1.989	1.674
กรดไฮโดรคลอริกในเมทานอล	0.309	0.218	-	-

หมายเหตุ สัญลักษณ์ “-” คือ ไม่ได้ทำการวัด

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงค่าแอมซอร์เบนซ์ของกรดคิฟเฟอิก (Caffeic acid) ที่ตรวจวัดได้จากการทำดีเอซีเลชันสารที่สกัดได้ในแต่ละตัวทำละลายที่ใช้สกัด โดยวัดที่ 326 นาโนเมตร เนื่องจากกรดชนิดนี้ละลายได้ง่ายเมื่อมีโซเดียมไฮดรอกไซด์ จึงไม่สามารถทำ Bathochromic shift ได้

ระบบตัวทำละลายที่ใช้สกัด	ค่าแอมซอร์เบนซ์ที่ 326 นาโนเมตร	
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2
กรดซัลฟูริกในเมทานอล	1.424	1.701
กรดทาร์ทาริกในเมทานอล	2.424	2.374
กรดไทรฟลูออโรแอซิดในเมทานอล	2.490	2.441
กรดไฮโดรคลอริกในเมทานอล	0.225	0.153

เอกสารนี้เป็นเอกสารเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ในการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงค่าแอมซอร์เบ้นซ์ของกรดฟีลลูริก (Foluric acid) จากการนำสารที่สกัดได้ในแต่ละตัว ทำละลายมาทำการขจัดหมู่เอซิด โดยวัดที่ 324 นาโนเมตร และเมื่อทำ Bathochromic shift จะวัดที่ 344 นาโนเมตร

ระบบตัวทำละลายที่ใช้สกัด	ค่าแอมซอร์เบ้นซ์ที่ 324 นาโนเมตร		ค่าแอมซอร์เบ้นซ์ที่ 344 นาโนเมตร	
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2
กรดซิทริกในเมทานอล	1.516	1.757	0.955	1.815
กรดทาร์ทาริกในเมทานอล	2.435	2.382	0.880	0.730
กรดไพรฟลูออโรเอซิดิกในเมทานอล	2.574	2.454	2.329	1.266
กรดไฮโดรคลอริกในเมทานอล	0.236	0.159	-	-

หมายเหตุ สัญลักษณ์ “-” คือ ไม่ได้ทำการวัด

ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงค่าแอมซอร์เบ้นซ์ของกรดซินาปิก (Sinapic acid) จากการนำสารที่สกัดได้ในแต่ละตัว ทำละลายมาทำการขจัดหมู่เอซิด โดยวัดที่ 325 นาโนเมตร และเมื่อทำ Bathochromic shift จะวัดที่ 350 นาโนเมตร

ระบบตัวทำละลายที่ใช้สกัด	ค่าแอมซอร์เบ้นซ์ที่ 325 นาโนเมตร		ค่าแอมซอร์เบ้นซ์ที่ 350 นาโนเมตร	
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2
กรดซิทริกในเมทานอล	1.460	1.734	1.013	1.979
กรดทาร์ทาริกในเมทานอล	2.411	2.361	0.734	0.625
กรดไพรฟลูออโรเอซิดิกในเมทานอล	2.529	2.468	2.144	1.101
กรดไฮโดรคลอริกในเมทานอล	0.230	0.157	-	-

หมายเหตุ สัญลักษณ์ “-” คือ ไม่ได้ทำการวัด

สำหรับวิจารณ์ผลการทดลองในส่วน 4.1.2 นี้รวมถึงในส่วน 4.1.3 ที่จะแสดงผลต่อไปจะขอเข้าไปกล่าวรวมอยู่ในบทสรุปและข้อเสนอแนะ (บทที่ 5)

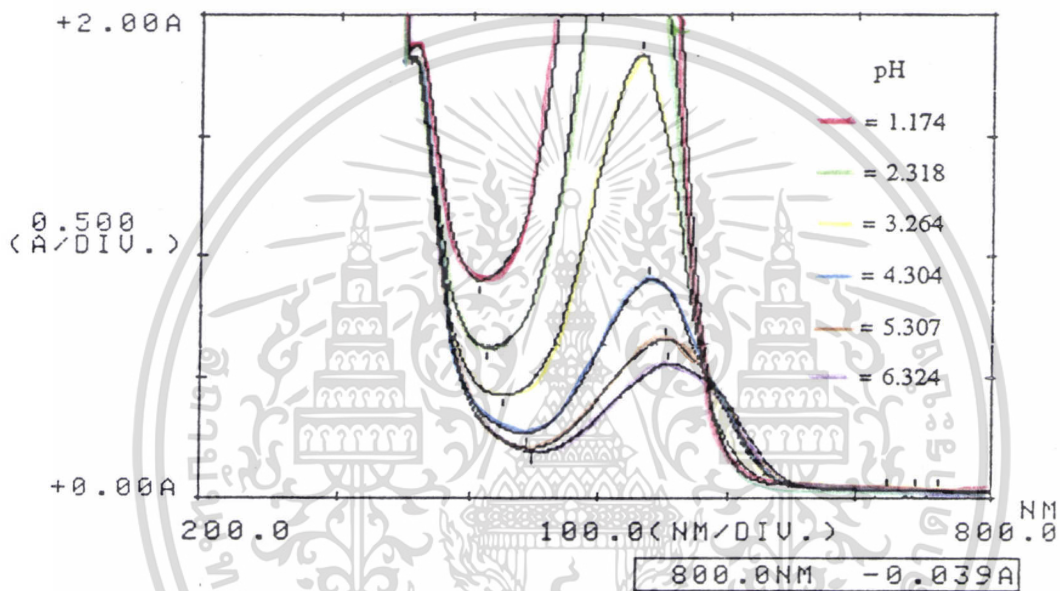
4.2 ผลการประยุกต์ใช้สารประกอบแอนโทไซยานินเป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส

4.2.1 ผลการศึกษาช่วงการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง ผลการทดลองในส่วนนี้จะแบ่งแสดงเป็น 2 ส่วน คือ แสดงช่วงเปลี่ยนสีคร่าว ๆ ในแต่ละระบบตัวทำละลายที่ใช้สกัดพร้อมรูปสเปกตรากของสารที่ค่าพีเอชต่าง ๆ กับอีกส่วนจะแสดงข้อมูลในการทำ French curve เพื่อหาค่า pK_{ln} และสเปกตรากของสารที่สกัดได้ในช่วงพีเอชที่ทำการ French Curve เนื่องจากเวลาในการทำโครงการพิเศษนี้มีจำกัดดังนั้นค่า pK_{ln} ที่ครบทุกช่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนสีจะมีเฉพาะระบบสกัดที่เป็นน้ำและสารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ส่วนในระบบตัวทำละลายอื่น เลือกทำเฉพาะช่วงที่เปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นเขียวเท่านั้น เพราะเป็นช่วงที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในปฏิบัติการไทเทรตกรด-เบสซึ่งจะกล่าวต่อไปภายหลัง สำหรับในส่วนแรกปรากฏผลดังต่อไปนี้

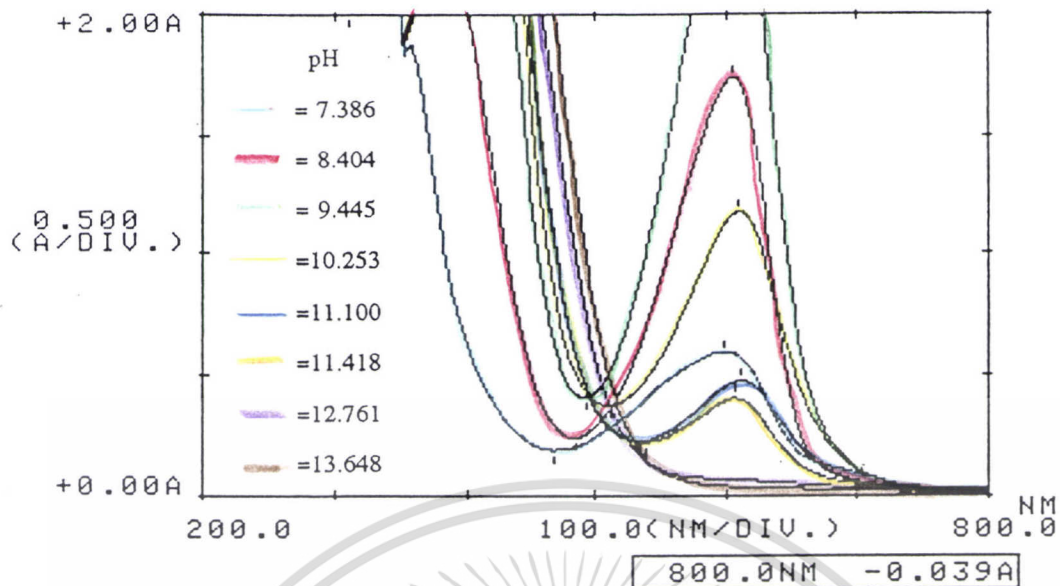
4.2.1.1 การเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้น 60 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 14



รูปที่ 4.2 รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้น 60 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1.1 ถึง 6.3

จากรูปที่ 4.2 จะเห็นว่าในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1.174 ถึง 6.324 จะมีจุดไอโซเบสติก (Isobestic Point) อยู่ที่ค่าความยาวคลื่นประมาณ 582 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



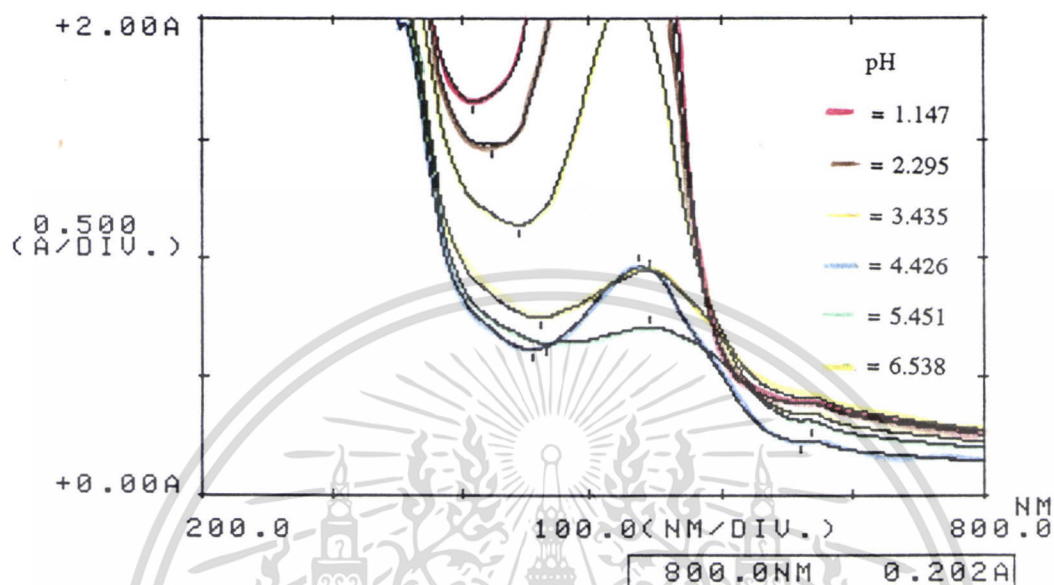
รูปที่ 4.3 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้น 60 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.3 ถึง 13.6

ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงสีของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้น 60 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 13 พร้อมข้อมูลสเปกตร

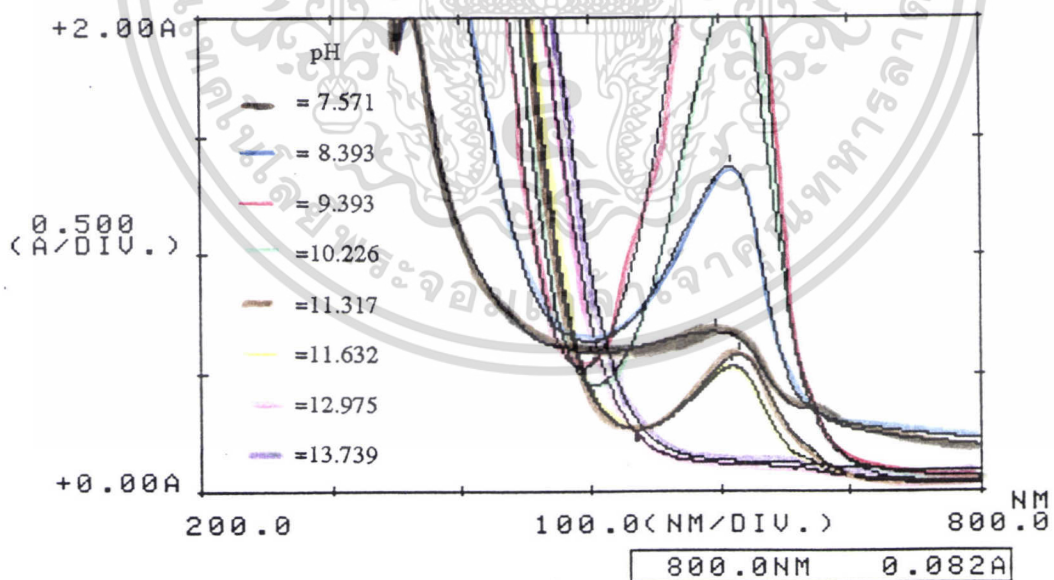
ค่าพีเอชของสารละลาย	สีที่สังเกตเห็น	ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนมากที่สุด
1.174	แดง	524.0
2.318	แดง	524.0
3.264	ชมพู	531.0
4.304	ชมพูม่วง	537.0
5.307	ม่วงชมพู	550.0
6.324	ม่วง	551.0
7.386	น้ำเงิน	598.0
8.404	น้ำเงินอมเขียว	386.0 , 604.0
9.445	เขียวอมน้ำเงิน	429.0 , 607.0
10.253	เขียว	437.0 , 609.0
11.100	เขียวอมเหลือง	322.0 , 441.0 , 611.0
11.418	เขียวอมเหลือง	323.0 , 440.0 , 606.0
12.761	เหลือง	446.0
13.648	เหลือง	453.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1.2 การเปลี่ยนแปลงของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้ของผสมระหว่างเมทานอลกับไดเอทิลอีเทอร์อัตราส่วน (1:1) ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 14



รูปที่ 4.4 รูปแสดงสเปกตรามของสารที่สกัดได้โดยใช้ของผสมเมทานอลกับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1 : 1 ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1.1 ถึง 6.5



รูปที่ 4.5 รูปแสดงสเปกตรามของสารที่สกัดได้โดยใช้ของผสมเมทานอลกับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1 : 1 ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.5 ถึง 13.7

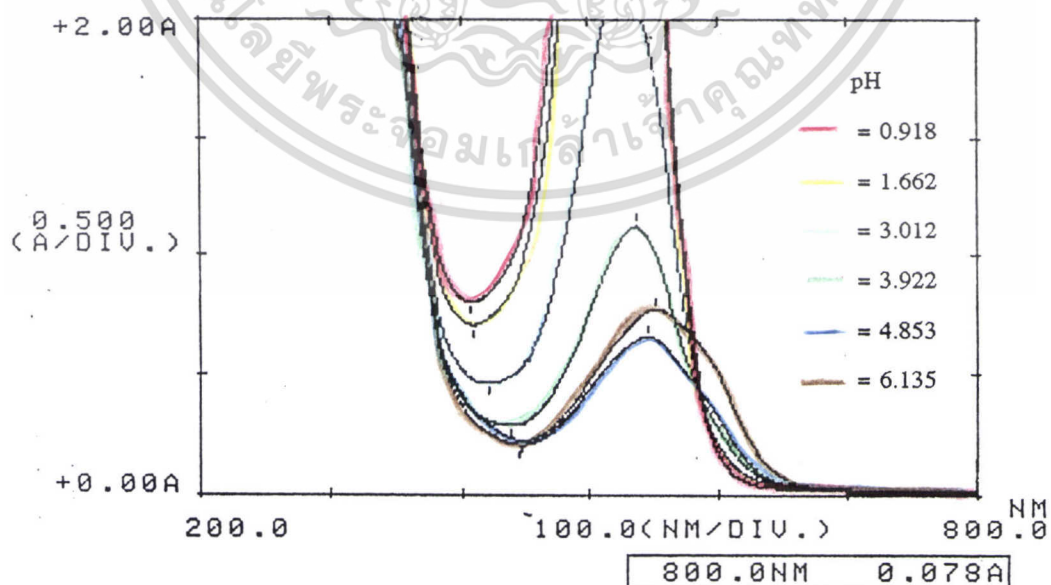
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงสีของสารที่สกัดได้โดยใช้ของผสมเมทานอลกับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1 : 1 ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 13 พร้อมข้อมูลสเปกตรา

ค่าพีเอชของสารละลาย	สีที่สังเกตเห็น	ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนมากที่สุด
1.147	แดง	524.0
2.295	แดง	524.0
3.435	ชมพูม่วง	532.0
4.426	ม่วงชมพู	537.0
5.451	ม่วงอ่อน	546.0
6.538	ม่วงจาง ๆ	545.0
7.571	น้ำเงินจาง ๆ	595.0
8.393	ฟ้าอมเขียว	384.0 , 607.0
9.393	เขียวอมฟ้า	430.0 , 593.0
10.226	เขียว	441.0 , 612.0
11.317	เขียวอมเหลือง	447.0 , 614.0
11.632	เขียวอมเหลือง	320.0 , 446.0 , 609.0
12.975	เหลือง	454.0
13.739	เหลือง	462.0

4.2.1.3 การเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้สารละลายกรด-

ไทรฟลูออโรแอสติกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 14



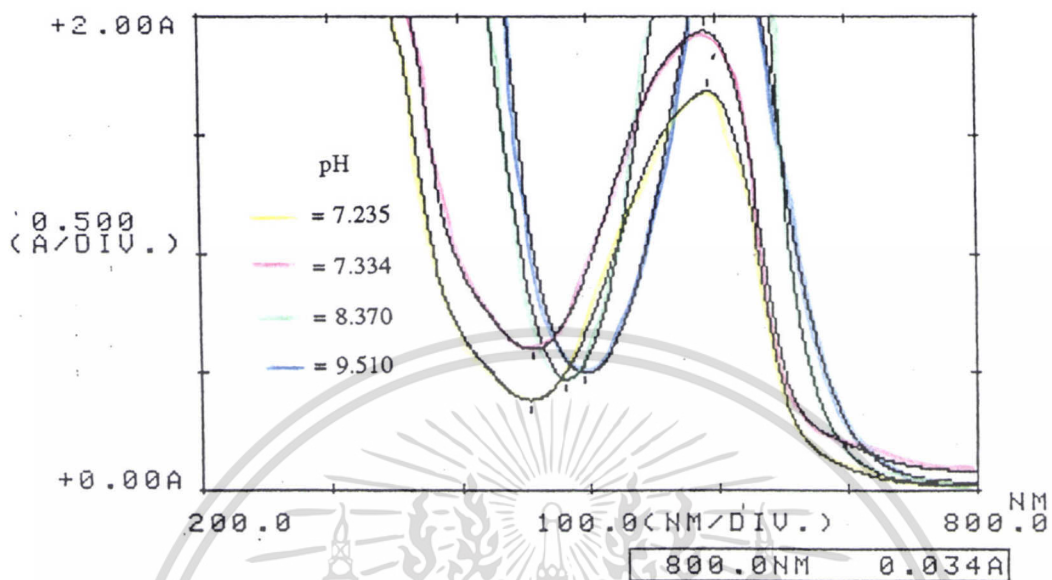
รูปที่ 4.6 รูปแสดงสเปกตรามของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายกรดไทรฟลูออโรแอสติกในเมทานอลเข้มข้น 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

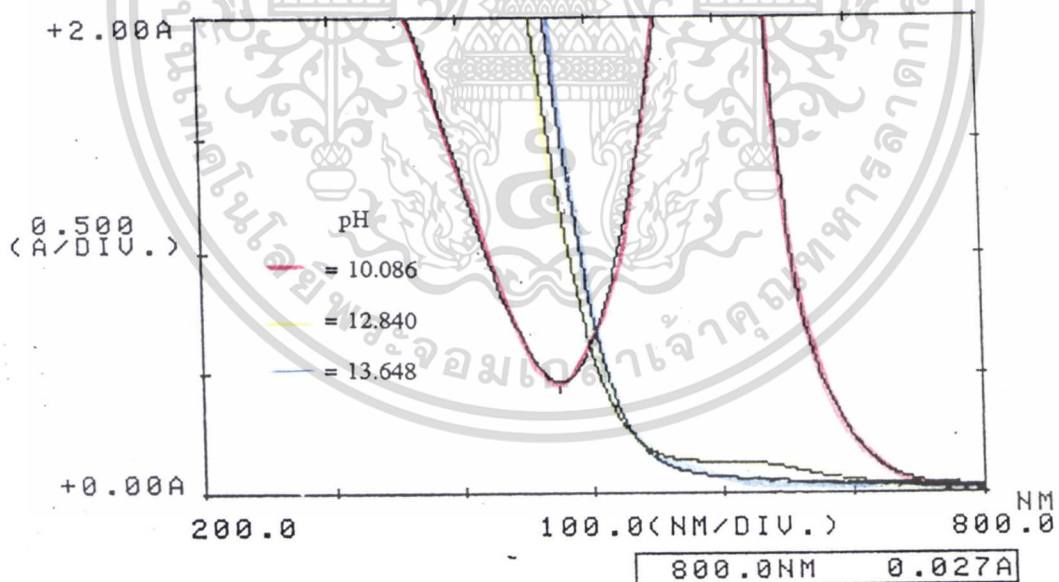
% ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 0.9 ถึง 6.1

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.6 จะเห็นว่าในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 0.918 ถึง 4.853 จะมีจุดไอโซเบส-ติกอยู่ที่ความยาวคลื่นประมาณ 582 นาโนเมตร



รูปที่ 4.7 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายกรดไทโรฟลูออโรแอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.2 ถึง 9.5



รูปที่ 4.8 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายกรดไทโรฟลูออโรแอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 10 ถึง 13.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

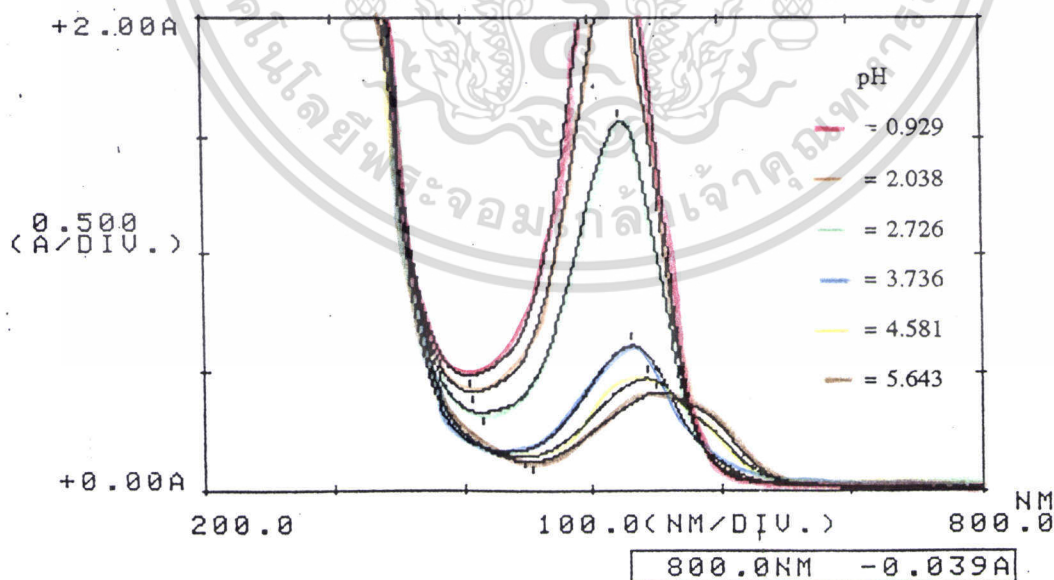
ตารางที่ 4.7 ตารางแสดงสีของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายกรดโทรฟลูออโรแอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 13 พร้อมข้อมูลสเปกตรา

ค่าพีเอชของสารละลาย	สีที่สังเกตเห็น	ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนมากที่สุด
0.918	แดง	524.0
1.662	แดง	524.0
3.012	ชมพู	532.0
3.922	ชมพูม่วง	536.0
4.853	ม่วงอ่อน	545.0
6.135	ม่วง	551.0
7.235	ม่วงอมน้ำเงิน	594.0
7.334	ม่วงอมน้ำเงิน	591.0
8.370	น้ำเงิน	411.0 , 571.0
9.510	น้ำเงินอมเขียว	429.0 , 612.0
10.086	เขียวอมน้ำเงิน	359.0 (sh) , 579.0
12.840	เหลืองอมเขียว	524.0
13.648	เหลือง	453.0

หมายเหตุ sh หมายถึง เห็นลักษณะเป็น shoulder

4.2.1.4 การเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีม่วงโดยใช้สารละลาย

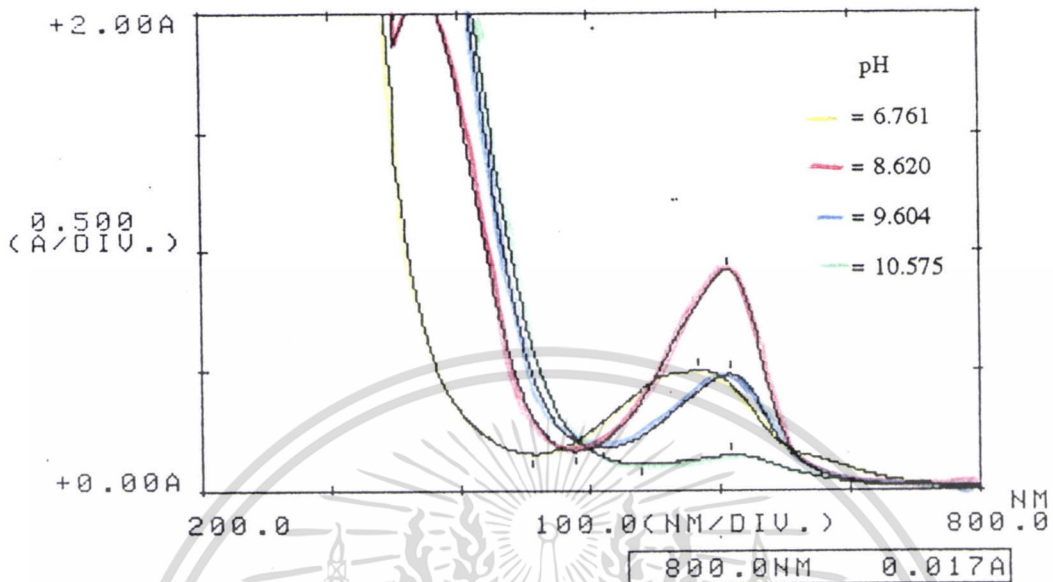
โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 4 M ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 14



รูปที่ 4.9 รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้น 4 M ในช่วงค่าพีเอช ตั้งแต่ 0.9 ถึง 5.6

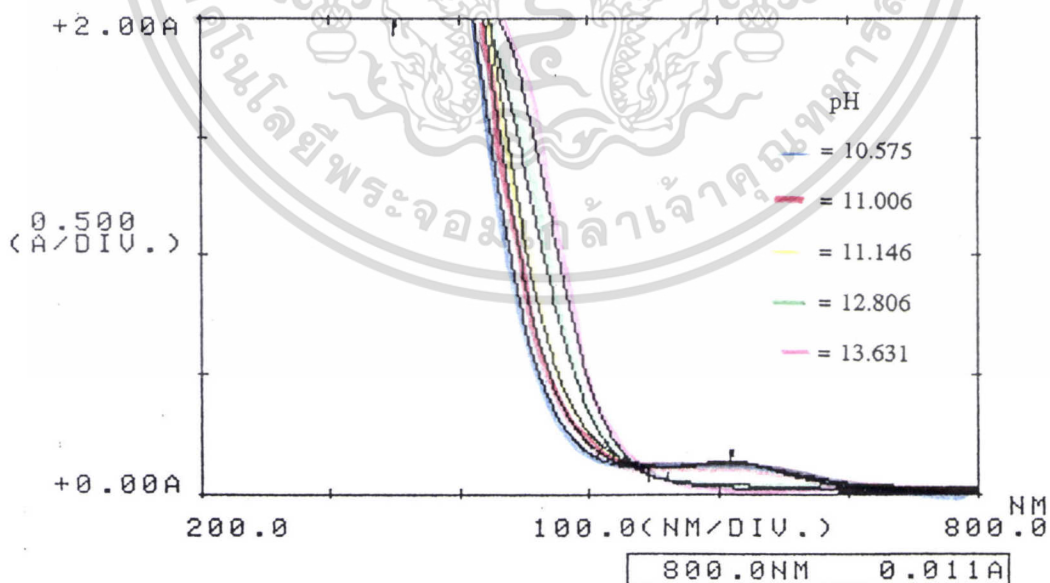
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.9 จะเห็นว่าในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 0.929 ถึง 4.581 มีจุดไอโซเบสติกอยู่ที่ค่าความยาวคลื่นประมาณ 582 นาโนเมตร



รูปที่ 4.10 รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้น 4 M ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 6.7 ถึง 10.5

จากรูปที่ 4.10 จะเห็นว่าในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 6.761 ถึง 9.604 จะมีจุดไอโซเบสติกอยู่ที่ค่าความยาวคลื่นประมาณ 655 นาโนเมตร



รูปที่ 4.11 รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้น 4 M ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 10.5 ถึง 13.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

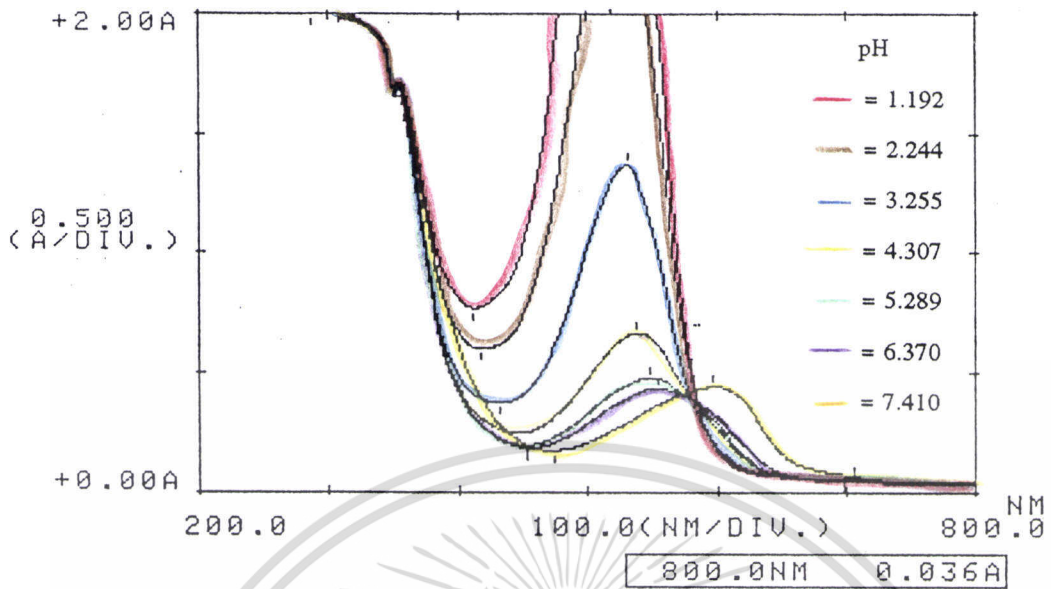
จากรูปที่ 4.11 จะเห็นว่าในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 10.575 ถึง 13.631 จะมีจุดไอโซเบสติกอยู่ที่ค่าความยาวคลื่นประมาณ 530 นาโนเมตร

ตารางที่ 4.8 ตารางแสดงสีของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 4 M ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 13 พร้อมข้อมูลสเปกตรัม

ค่าพีเอชของสารละลาย	สีที่สังเกตเห็น	ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนมากที่สุด
0.929	แดง	523.0
2.038	แดง	521.0
2.726	ชมพู	523.0
3.736	ชมพูม่วง	531.0
4.581	ม่วงอ่อน	543.0
5.643	ม่วง	550.0
6.761	ม่วงอมน้ำเงิน	584.0
8.620	ฟ้าอมเขียว	375.0 , 606.0
9.604	เขียว	387.0 , 607.0
10.575	เขียวอมเหลือง	392.0 , 609.0
11.006	เขียวอมเหลือง	405.0 , 607.0
11.146	เขียวอมเหลือง	409.0 , 608.0
12.806	เหลือง	391.0
13.631	เหลือง	379.0

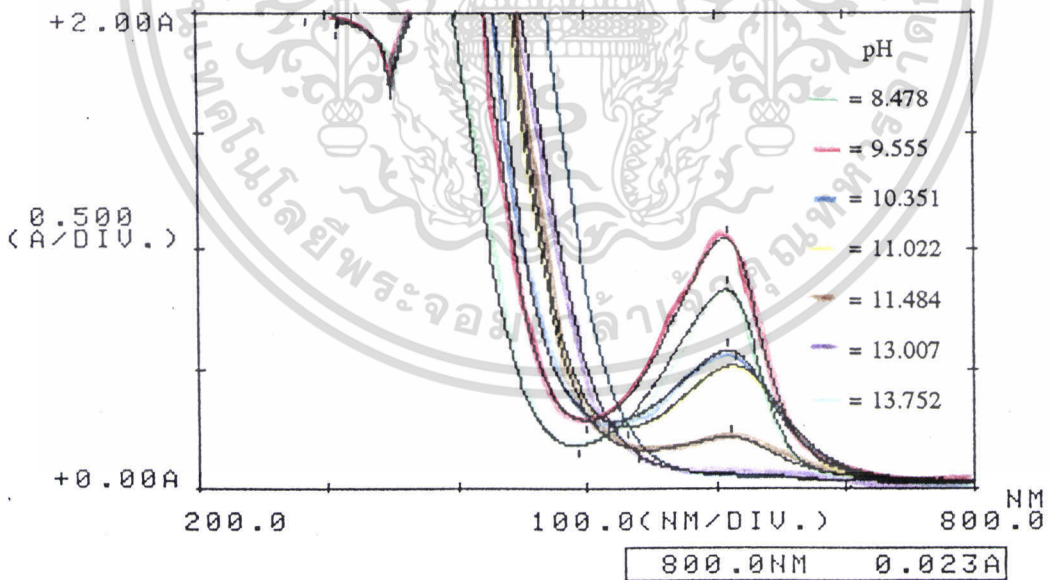
4.2.1.5 การเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีม่วงโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1.1 ถึง 7.4

จากรูปที่ 4.12 จะเห็นว่าในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1.192 ถึง 6.370 จะมีจุดไอโซเบสติกอยู่ค่าความยาวคลื่นประมาณ 582 นาโนเมตร



รูปที่ 4.13 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 8.4 ถึง 13.7

จากรูปที่ 4.13 จะเห็นว่าในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 10.351 ถึง 13.752 จะมีจุดไอโซเบสติกอยู่ที่ค่าความยาวคลื่นประมาณ 736 นาโนเมตร

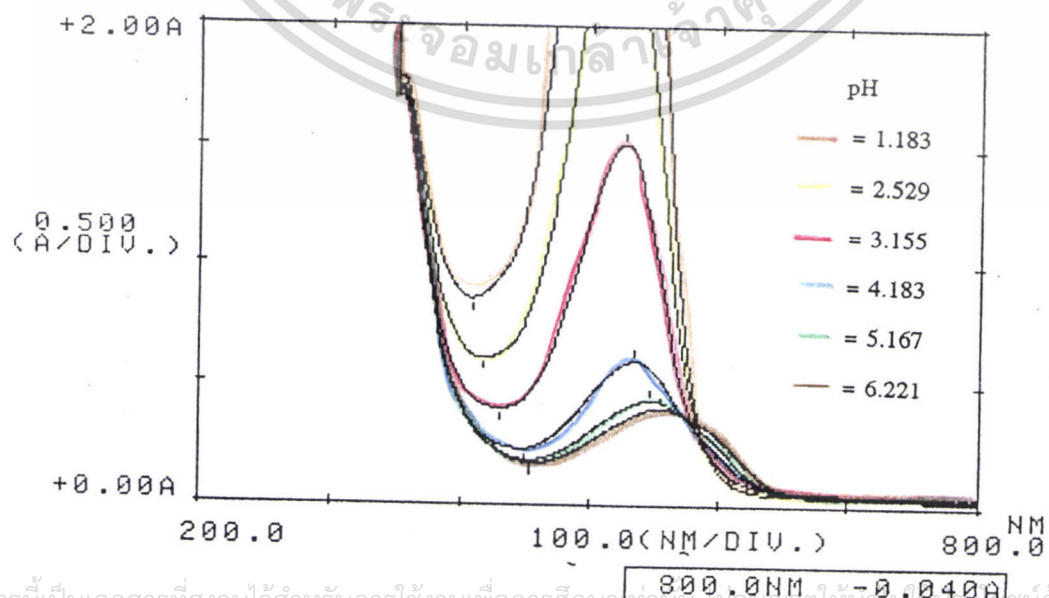
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ตารางแสดงสีของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 13 พร้อมข้อมูลสเปกตรา

ค่าพีเอชของสารละลาย	สีที่สังเกตเห็น	ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนมากที่สุด
1.192	แดง	490.0
2.244	แดง	516.0
3.255	ชมพูม่วง	530.0
4.307	ม่วงชมพู	537.0
5.289	ม่วง	548.0
6.370	ม่วง	553.0
7.410	น้ำเงิน	596.0
8.478	น้ำเงินอมเขียว	385.0 , 608.0
9.555	เขียวอมน้ำเงิน	403.0 , 607.0
10.351	เขียว	402.0 , 608.0
11.022	เขียว	402.0 , 615.0
11.484	เหลืองอมเขียว	402.0 , 610.0
13.007	เหลือง	402.0
13.752	เหลือง	402.0

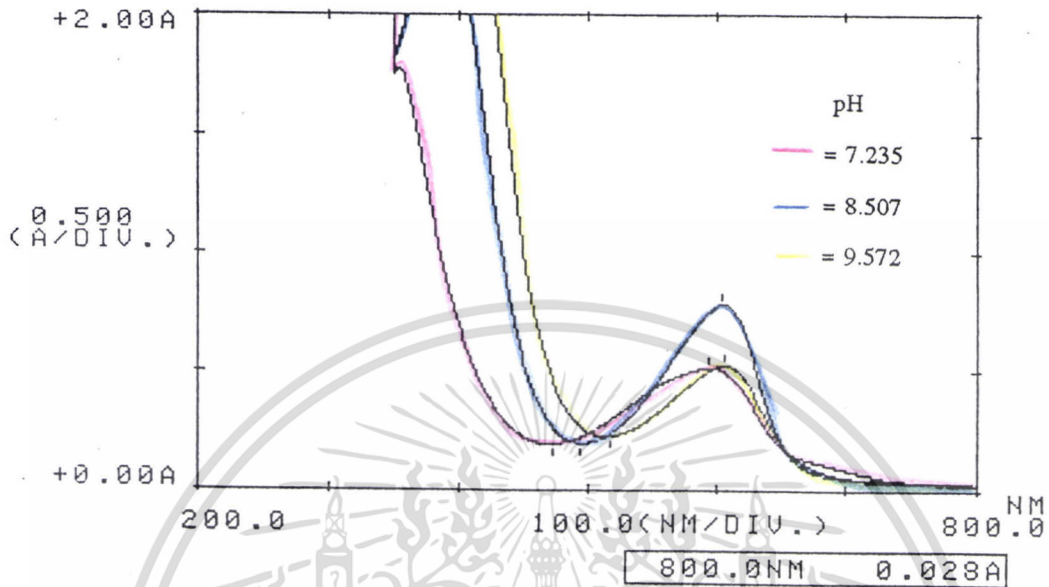
4.1.2.8 การเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีม่วงโดยใช้น้ำกลั่น ในช่วง

ค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 14



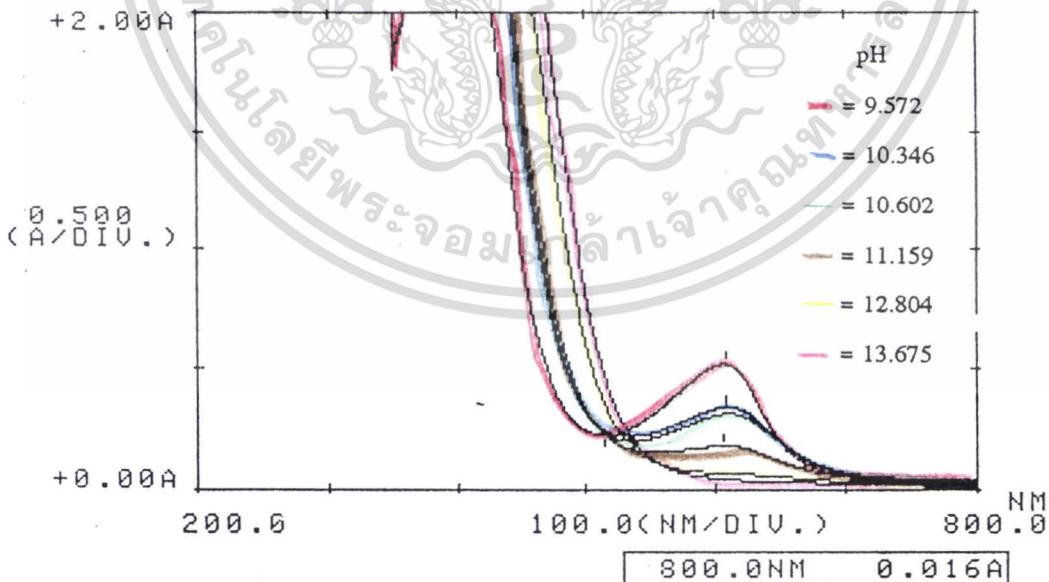
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิใช่เพื่อเผยแพร่ในเชิงพาณิชย์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ที่สืบ ลึกซึ้งหาเป็นได้ดัดแปลงแก้ไขใดๆ ต้องแจ้งเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
รูปที่ 4.14 รูปแสดงสเปกตรของสารที่สกัดได้โดยใช้ น้ำกลั่น ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1.1 ถึง 6.2

จากรูปที่ 4.14 จะเห็นว่าในช่วงพีเอชตั้งแต่ 1.183 ถึง 6.221 จะมีจุดไอโซเบสติก อยู่ที่ค่าความยาวคลื่น ประมาณ 582 นาโนเมตร



รูปที่ 4.15 รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.2 ถึง 9.5

จากรูปที่ 4.15 จะเห็นว่าในช่วงพีเอชตั้งแต่ 7.235 ถึง 9.572 จะมีจุดไอโซเบสติก อยู่ที่ค่าความยาวคลื่นประมาณ 655 นาโนเมตร



รูปที่ 4.16 รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 9.5 ถึง 13.6

จากรูปที่ 4.16 จะเห็นว่าในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 9.572 ถึง 13.675 จะมีจุดไอโซ-

เบสติกอยู่ที่ค่าความยาวคลื่นประมาณ 709 นาโนเมตร

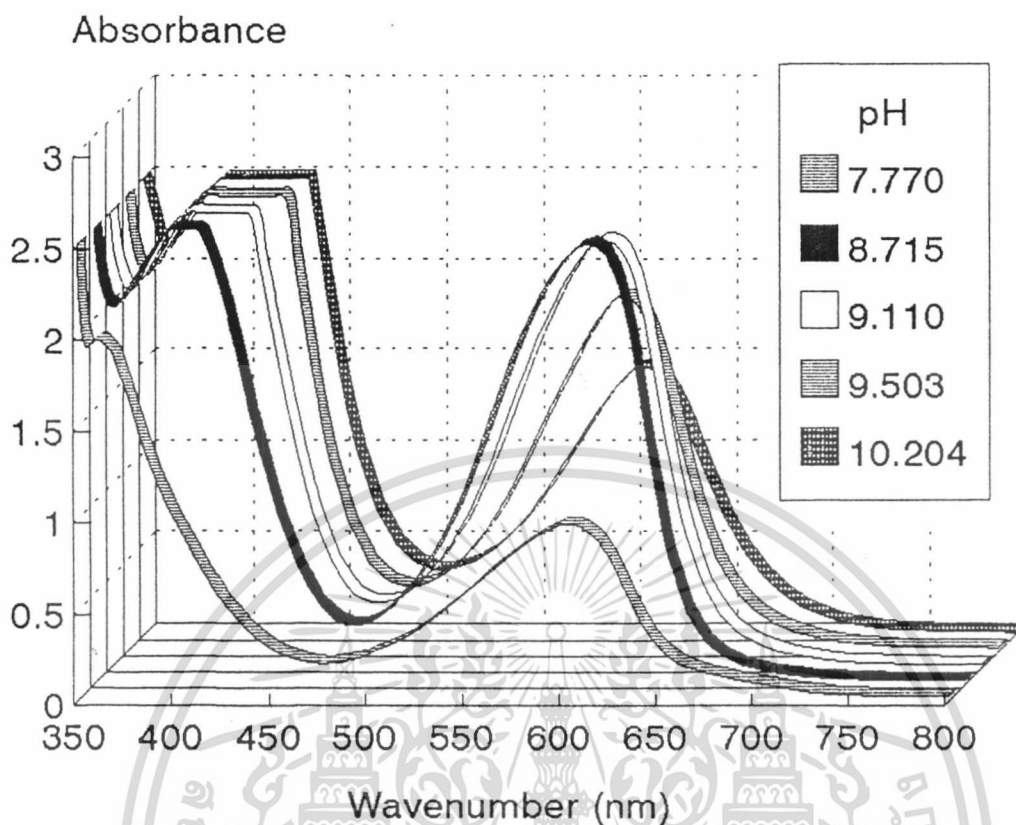
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งมอบไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ตารางแสดงสีของสารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 13 พร้อมข้อมูลสเปก-
ตรา

ค่าพีเอชของสารละลาย	สีที่สังเกตเห็น	ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนมากที่สุด
1.183	แดง	521.0
2.529	แดง	521.0
3.155	ชมพู	525.0
4.183	ชมพูม่วง	533.0
5.167	ม่วงชมพู	545.0
6.221	ม่วง	553.0
7.235	น้ำเงิน	593.0
8.507	เขียวอมฟ้า	393.0 , 604.0
9.572	เขียว	416.0 , 606.0
10.346	เขียวอมเหลือง	432.0 , 609.0
10.602	เขียวอมเหลือง	433.0 , 609.0
11.159	เหลืองอมเขียว	434.0 , 606.0
12.804	เหลือง	446.0
13.675	เหลือง	455.0

**4.2.1.7 การหาช่วงการเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีม่วงโดยใช้สาร-
ละลายเมทานอลเข้มข้น 80 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.7 ถึง 10.2 (สีนํ้าเงินไปเป็นสีเขียว)**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.17 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้น 60 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.8 ถึง 9.8

เมื่อนำสารที่สกัดได้มาปรับพีเอชให้อยู่ในรูปกรด (สีน้ำเงิน) และ รูปเบส (สีเขียว) แล้วนำมาวัดสเปกตรากหาค่าความยาวคลื่นที่ทั้งสองรูปมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุด พบว่า ค่าความยาวคลื่นที่ 434.5 นาโนเมตรทั้งสองรูปจะมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุด (ดูรูปที่ 4.17) จึงนำมาใช้ในการหาค่า pK_m โดยแสดงผลดังนี้

ค่าแอมพลิจูดของรูปกรด ; A_b (สีน้ำเงิน) ที่ 434.5 นาโนเมตรเท่ากับ 0.429 Absorbance unit

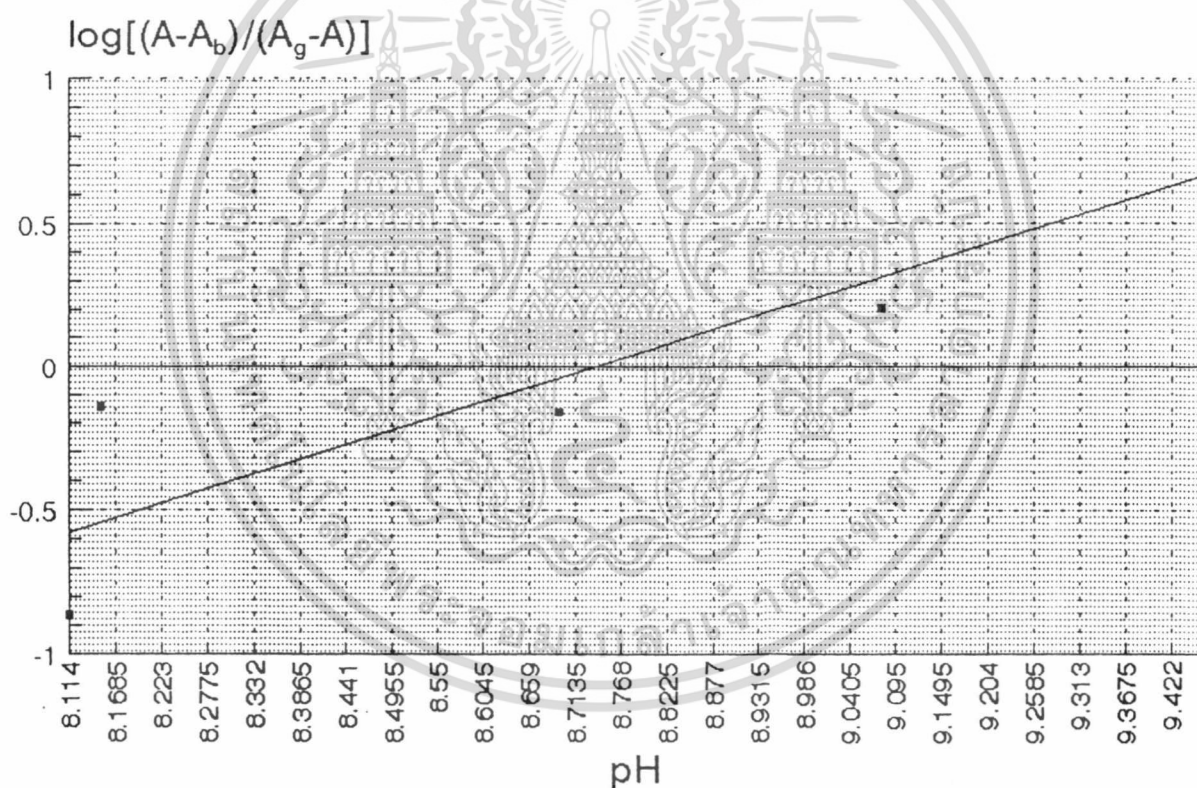
ค่าแอมพลิจูดของรูปเบส ; A_g (สีเขียว) ที่ 434.5 นาโนเมตรเท่ากับ 2.499 Absorbance unit

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ตารางแสดงความสัมพันธ์ค่าพีเอชและค่าแอบซอร์เบแนนซ์ของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้น 60 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 8.1 ถึง 9.4

pH	Absorbance ; A	$A - A_b$	$A_g - A$	$\log [(A-A_b)/(A_g-A)]$
8.114	0.678	0.249	1.821	- 0.8641
8.151	1.297	0.868	1.202	- 0.1414
8.694	1.273	0.844	1.226	- 0.1621
9.078	1.173	1.274	0.796	0.2040
9.460	2.209	1.780	0.290	0.7880

นำข้อมูลจากตารางที่ 4.10 มาสร้างกราฟระหว่าง $\log [(A-A_b)/(A_g-A)]$ กับ pH เพื่อหาจุดตัดแกน pH ได้กราฟดังรูปที่ 4.18

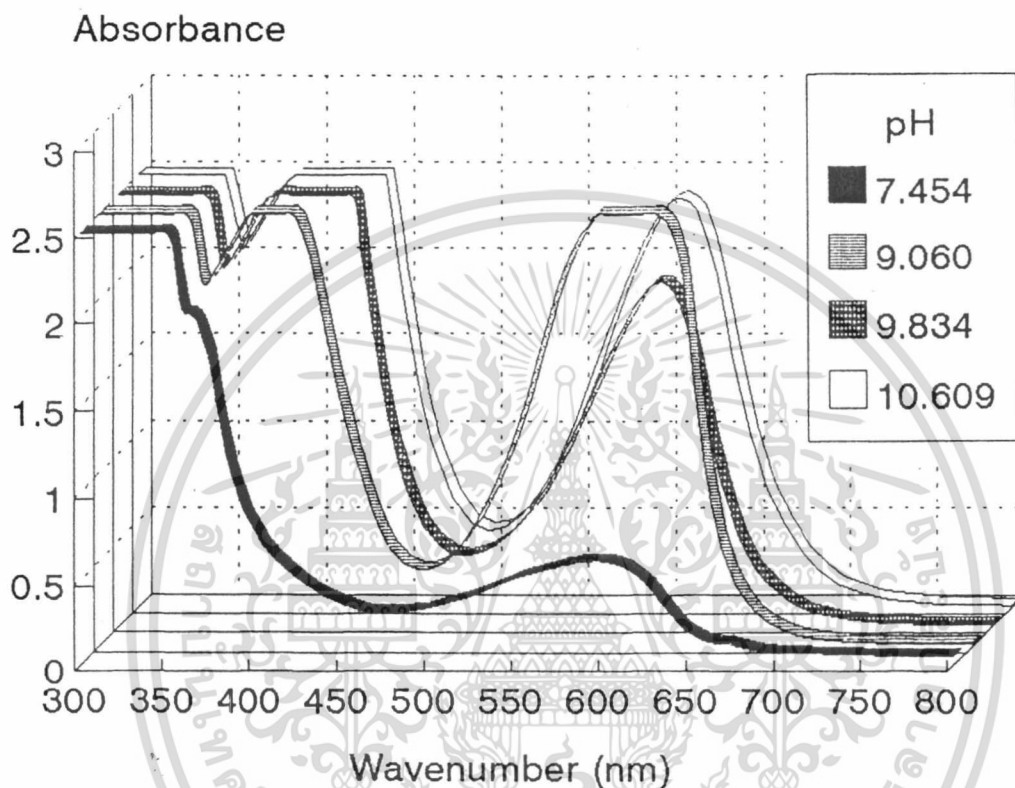


รูปที่ 4.18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_b)/(A_g-A)]$ กับ pH ของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้น 60 % ในช่วงของการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินไปเป็นเขียว

จากรูปที่ 4.18 จะได้จุดตัดแกน pH มีค่าเท่ากับ 8.739 นั่นคือ pK_{In} ของสารในช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นเขียวก็มีค่าเท่ากับ 8.739 ดังนั้นสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเมทานอลเข้มข้น 60 % จะมีช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นเขียวตั้งแต่ค่าพีเอชประมาณ 7.7 ถึง 9.7.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1.8 การหาช่วงการเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้ของผสมเมทานอลกับไดเอทิลอีเทอร์อัตราส่วน 1 : 1 ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.4 ถึง 10.5 (สีนํ้าเงิน ไปเป็นสีเขียว)



รูปที่ 4.19 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่สกัดได้โดยใช้ของผสมเมทานอลกับไดเอทิลอีเทอร์อัตราส่วน 1 : 1 ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.4 ถึง 10.5

เมื่อนำสารที่สกัดได้มาปรับพีเอชให้อยู่ในรูปกรด (สีนํ้าเงิน) และ รูปเบส (สีเขียว) แล้วนำมาวัดสเปกตรากค่าความยาวคลื่นที่ทั้งสองรูปมีค่าแอมซอร์เบแนนซ์ต่างกันมากที่สุดพบว่า ค่าความยาวคลื่นที่ 442.0 นาโนเมตรทั้งสองรูปจะมีค่าแอมซอร์เบแนนซ์ต่างกันที่สุด (ดูรูปที่ 4.19) จึงนำมาใช้ในการหาค่า pK_m โดยแสดงผลดังนี้

ค่าแอมซอร์เบแนนซ์ของรูปกรด ; A_b (สีนํ้าเงิน) ที่ 442.0 นาโนเมตรเท่ากับ 0.417 Absorbance unit

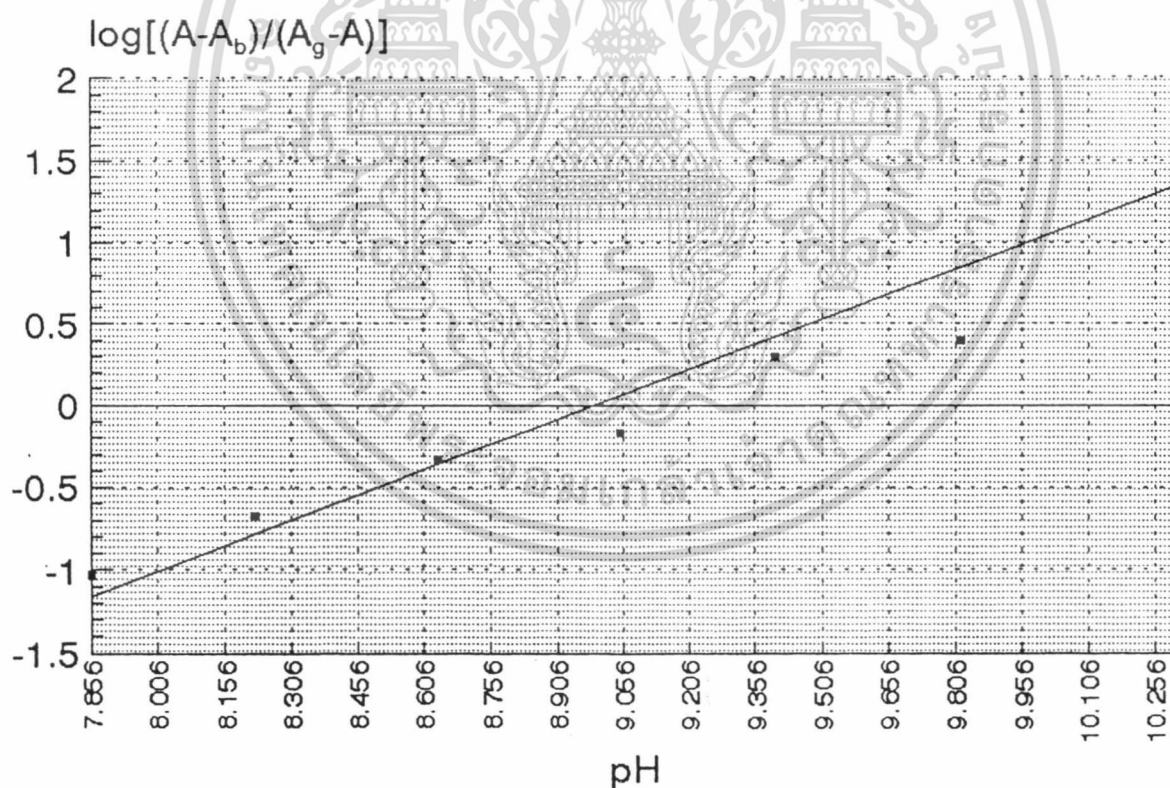
ค่าแอมซอร์เบแนนซ์ของรูปเบส ; A_g (สีเขียว) ที่ 442.0 นาโนเมตรเท่ากับ 2.469 Absorbance unit

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 ตารางแสดงความสัมพันธ์ค่าพีเอชและค่าแอบซอร์เบ้นซ์ของสารที่สกัดได้โดยใช้ของผสมเมทานอลกับโคเอทิลอีเทอร์อัตราส่วน 1 : 1 ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.8 ถึง 10.3

pH	Absorbance ; A	A - A _b	A _g - A	log [(A-A _b)/(A _g -A)]
7.856	0.592	0.175	1.877	- 1.0304
8.224	0.774	0.357	1.695	- 0.6765
8.638	1.071	0.654	1.398	- 0.3299
9.049	1.245	0.828	1.224	- 0.1698
9.400	1.785	1.368	0.684	0.3010
9.816	1.881	1.464	0.588	0.3962
10.310	2.441	2.024	0.028	1.8591

นำข้อมูลจากตารางที่ 4.11 มาสร้างกราฟระหว่าง $\log [(A-A_b)/(A_g-A)]$ กับ pH เพื่อหาจุดตัดแกน pH ได้กราฟดังรูปที่ 4.20

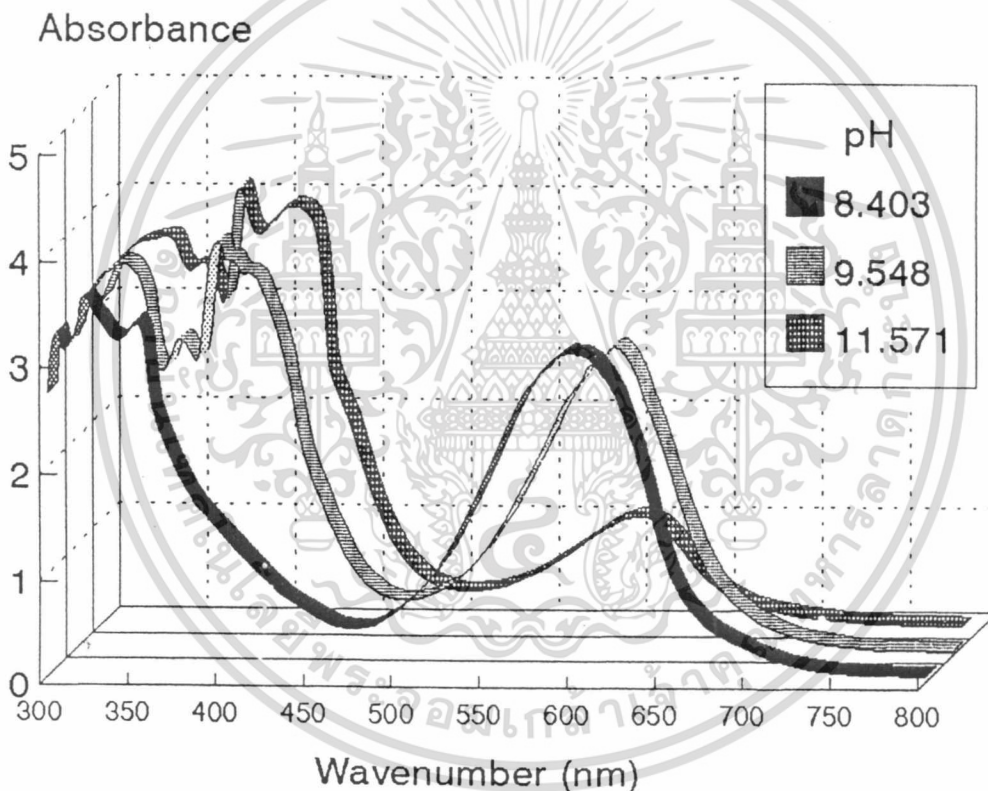


รูปที่ 4.20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_b)/(A_g-A)]$ กับ pH ของสารที่สกัดได้โดยใช้ของผสมเมทานอลกับโคเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1 : 1 ในช่วงของการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินไปเป็นเขียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.20 จะได้จุดตัดแกน pH มีค่าเท่ากับ 8.991 นั่นคือ pK_{In} ของสารในช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นเขียวก็มีค่าเท่ากับ 8.991 ดังนั้นสารที่สกัดได้โดยใช้ของผสมเมทานอลกับไดเอทิลอีเทอร์อัตราส่วน 1 : 1 จะมีช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นเขียวตั้งแต่ค่าพีเอชประมาณ 8.0 ถึง 10.0

4.2.1.9 การหาช่วงการเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้สารละลายกรดไทรฟลูออโรแอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 8.3 ถึง 11.5 (สีนํ้าเงินไปเป็นสีเขียว)



รูปที่ 4.21 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายกรดไทรฟลูออโรแอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 8.3 ถึง 11.5

เมื่อนําสารที่สกัดได้มาปรับพีเอชให้อยู่ในรูปกรด (สีนํ้าเงิน) และ รูปเบส (สีเขียว) แล้วนำมาวัดสเปกตรากหาค่าความยาวคลื่นที่ทั้งสองรูปมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุดพบว่า ค่าความยาวคลื่นที่ 417.0 นาโนเมตรทั้งสองรูปจะมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุด (ดูรูปที่ 4.21) จึงนำมาใช้ในการหาค่า pK_{In} โดยแสดงผลดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

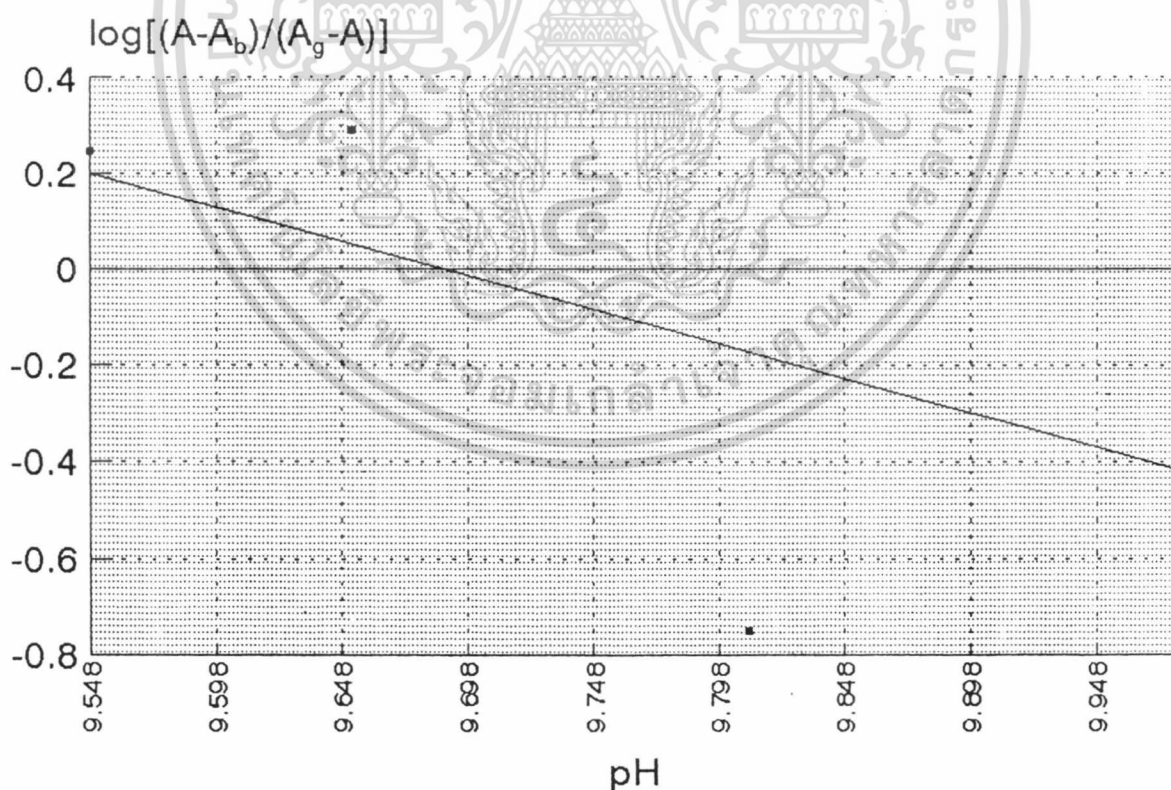
ค่าแอมซอร์เบแนนซ์ของรูปกรด ; A_b (สีน้ำเงิน) ที่ 417.0 นาโนเมตรเท่ากับ 0.951 Absorbance unit

ค่าแอมซอร์เบแนนซ์ของรูปเบส ; A_g (สีเขียว) ที่ 417.0 นาโนเมตรเท่ากับ 4.029 Absorbance unit

ตารางที่ 4.12 ตารางแสดงความสัมพันธ์ค่าพีเอชและค่าแอมซอร์เบแนนซ์ของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายกรด ไทรฟลูออโรแอซีติกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 9.5 ถึง 9.9

pH	Absorbance ; A	$A - A_b$	$A_g - A$	$\log [(A-A_b)/(A_g-A)]$
9.548	2.916	1.965	1.113	0.2469
9.652	2.989	2.038	1.040	0.2922
9.810	1.416	0.465	2.613	- 0.7497
9.981	2.268	1.317	1.761	- 0.1262

นำข้อมูลจากตารางที่ 4.12 มาสร้างกราฟระหว่าง $\log [(A-A_b)/(A_g-A)]$ กับ pH เพื่อหาจุดตัดแกน pH ได้กราฟดังรูปที่ 4.22

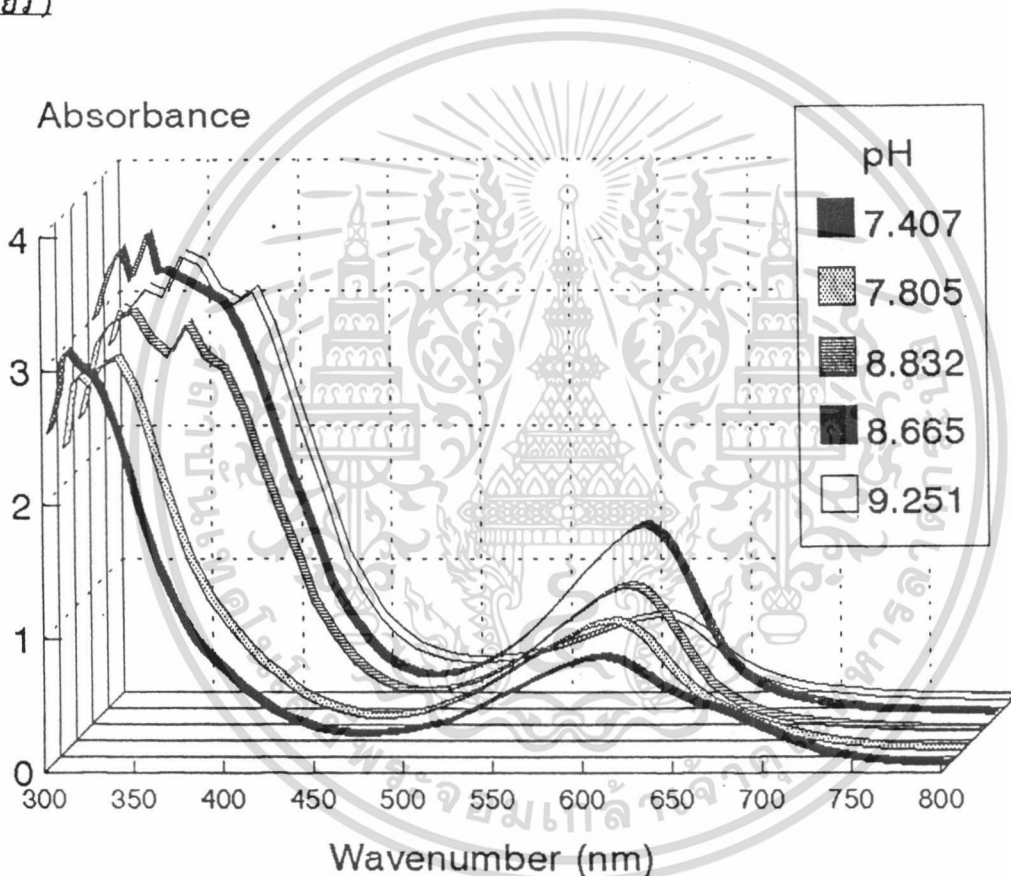


รูปที่ 4.22 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_b)/(A_g-A)]$ กับ pH ของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลาย กรดไตรฟลูออโรแอซีติกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ในช่วงของการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินไปเป็นเขียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.22. จะได้จุดตัดแกน pH มีค่าเท่ากับ 9.6895 นั่นคือ pK_m ของสารในช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นเขียวก็มีค่าเท่ากับ 9.6895 ดังนั้นสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายกรดไทรอฟลูออโรไอโซซิติกลงในเมทานอลเข้มข้น 1 % จะมีช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นเขียวตั้งแต่ค่าพีเอชประมาณ 8.7 ถึง 10.7

4.2.1.10 การหาช่วงการเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 4 M ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.4 ถึง 9.2 (สีนํ้าเงินไปเป็นสีเขียว)



รูปที่ 4.23 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 4 M ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.4 ถึง 9.2

เมื่อนำสารที่สกัดได้มาปรับพีเอชให้อยู่ในรูปกรด (สีนํ้าเงิน) และ รูปเบส (สีเขียว) แล้วนำมาวัดสเปกตราค่าความยาวคลื่นที่ทั้งสองรูปมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุดพบว่า ค่าความยาวคลื่นที่ 376.0 นาโนเมตรทั้งสองรูปจะมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุด (ดูรูปที่ 4.23) จึงนำมาใช้ในการหาค่า pK_m โดยแสดงผลดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

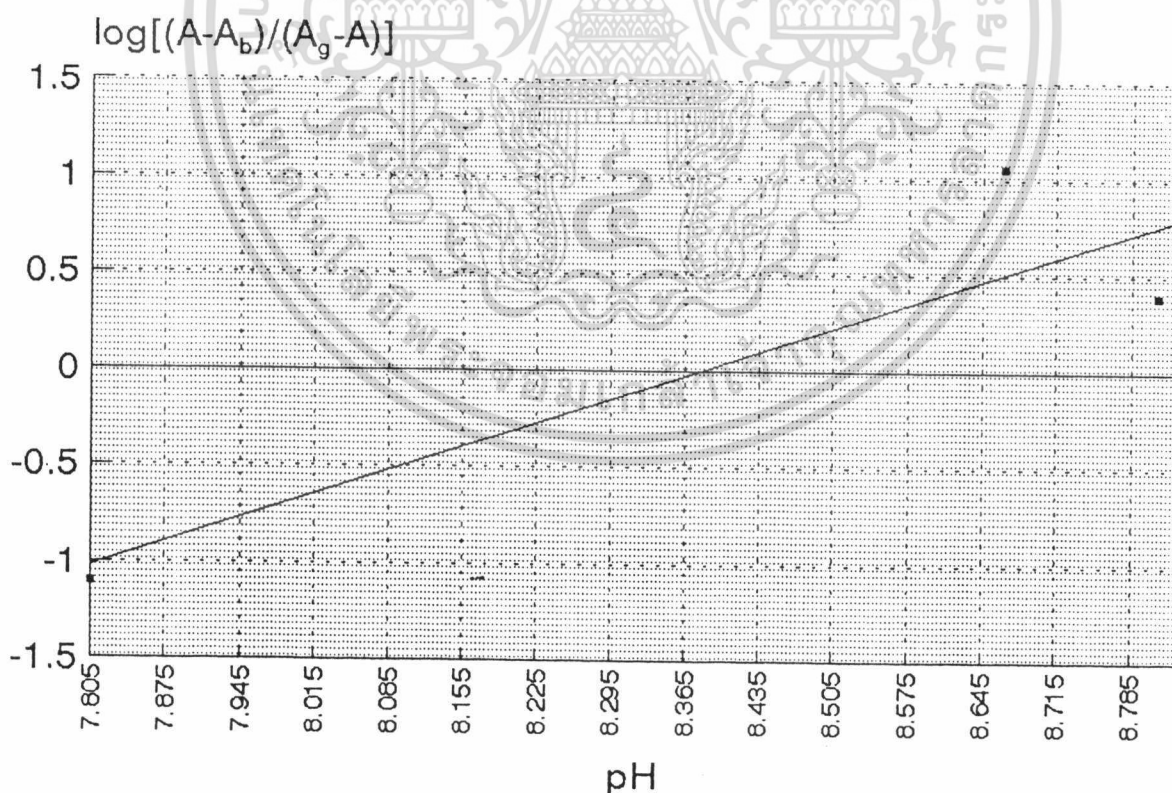
ค่าแอมซอร์เบ้นซ์ของรูปกรด ; A_b (สีน้ำเงิน) ที่ 376.0 นาโนเมตรเท่ากับ 1.074 Absorbance unit

ค่าแอมซอร์เบ้นซ์ของรูปเบส ; A_g (สีเขียว) ที่ 376.0 นาโนเมตรเท่ากับ 3.161 Absorbance unit

ตารางที่ 4.13 ตารางแสดงความสัมพันธ์ค่าพีเอชและค่าแอมซอร์เบ้นซ์ของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 4 M ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.8 ถึง 8.6

pH	Absorbance ; A	$A - A_b$	$A_g - A$	$\log [(A-A_b)/(A_g-A)]$
7.805	1.227	0.153	1.934	- 1.1018
8.810	2.561	1.487	0.600	0.3942
8.832	2.815	1.741	0.346	0.7017
8.665	2.993	1.919	0.168	1.0578

นำข้อมูลจากตารางที่ 4.13 มาสร้างกราฟระหว่าง $\log [(A-A_b)/(A_g-A)]$ กับ pH เพื่อหาจุดตัดแกน pH ได้กราฟดังรูปที่ 4.24

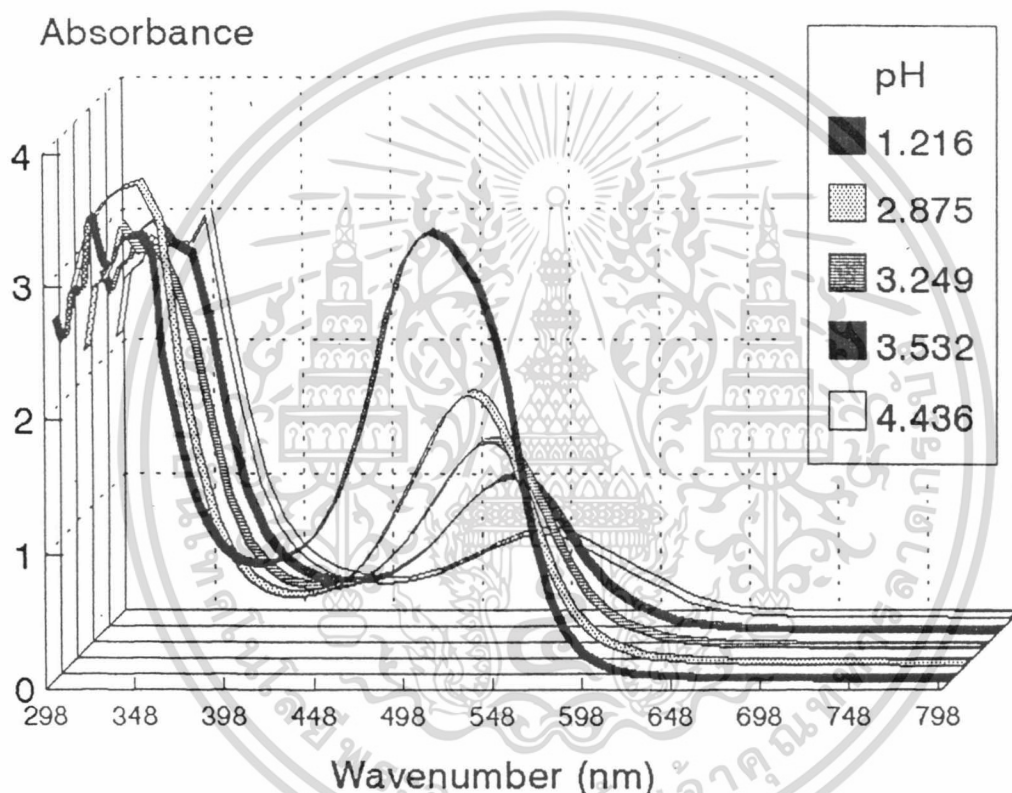


รูปที่ 4.24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_b)/(A_g-A)]$ กับ pH ของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 4 M ในช่วงของการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินไปเป็นเขียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.24 จะได้จุดตัดแกน pH มีค่าเท่ากับ 8.38125 นั่นคือ pK_m ของสารในช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นเขียวก็มีค่าเท่ากับ 8.38125 ดังนั้นสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 4 M จะมีช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นเขียวตั้งแต่ค่าพีเอชประมาณ 7.4 ถึง 9.4

4.2.1.11 การหาช่วงการเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสี-ม่วงโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 2.5 ถึง 5.2 (สีม่วงไปเป็นสีม่วง)



รูปที่ 4.25 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 2.5 ถึง 5.2

เมื่อนำสารที่สกัดได้มาปรับพีเอชให้อยู่ในรูปกรด (สีม่วง) และ รูปเบส (สี ม่วง) แล้วนำมาวัดสเปกตราค่าความยาวคลื่นที่ทั้งสองรูปมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุด พบว่า ค่าความยาวคลื่นที่ 513.0 นาโนเมตรทั้งสองรูปจะมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุด (ดูรูปที่ 4.25) จึงนำมาใช้ในการหาค่า pK_m โดยแสดงผลดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าแอมซอร์เบ้นซ์ของรูปกรด ; A_p (สีชมพู) ที่ 513.0 นาโนเมตรเท่ากับ 2.077

Absorbance unit

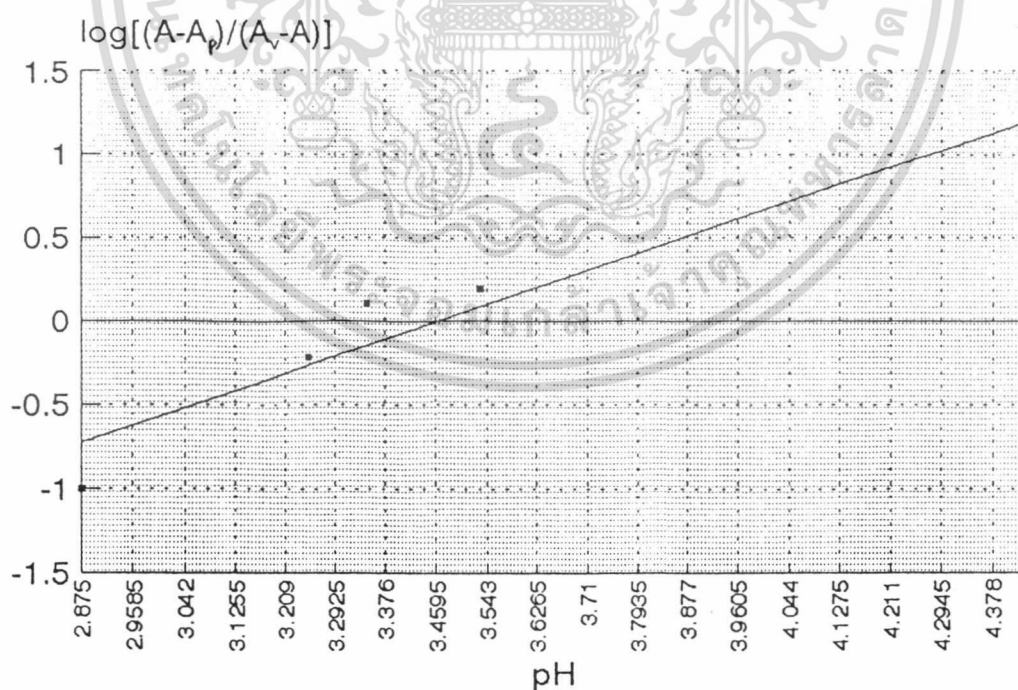
ค่าแอมซอร์เบ้นซ์ของรูปเบส ; A_v (สีม่วง) ที่ 513.0 นาโนเมตรเท่ากับ 0.428

Absorbance unit

ตารางที่ 4.14 ตารางแสดงความสัมพันธ์ค่าพีเอชและค่าแอมซอร์เบ้นซ์ของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 2.8 ถึง 4.4

pH	Absorbance ; A	$A - A_p$	$A_v - A$	$\log [(A - A_p)/(A_v - A)]$
2.875	1.927	- 0.15	- 1.499	- 0.9997
3.249	1.455	- 0.622	- 1.027	- 0.2180
3.346	1.150	- 0.927	- 0.722	0.1090
3.532	1.092	- 1.005	- 0.644	0.1930
4.436	0.556	- 1.521	- 0.128	1.0730

นำข้อมูลจากตารางที่ 4.14 มาสร้างกราฟระหว่าง $\log [(A - A_p)/(A_v - A)]$ กับ pH เพื่อหาจุดตัดแกน pH ได้กราฟดังรูปที่ 4.26

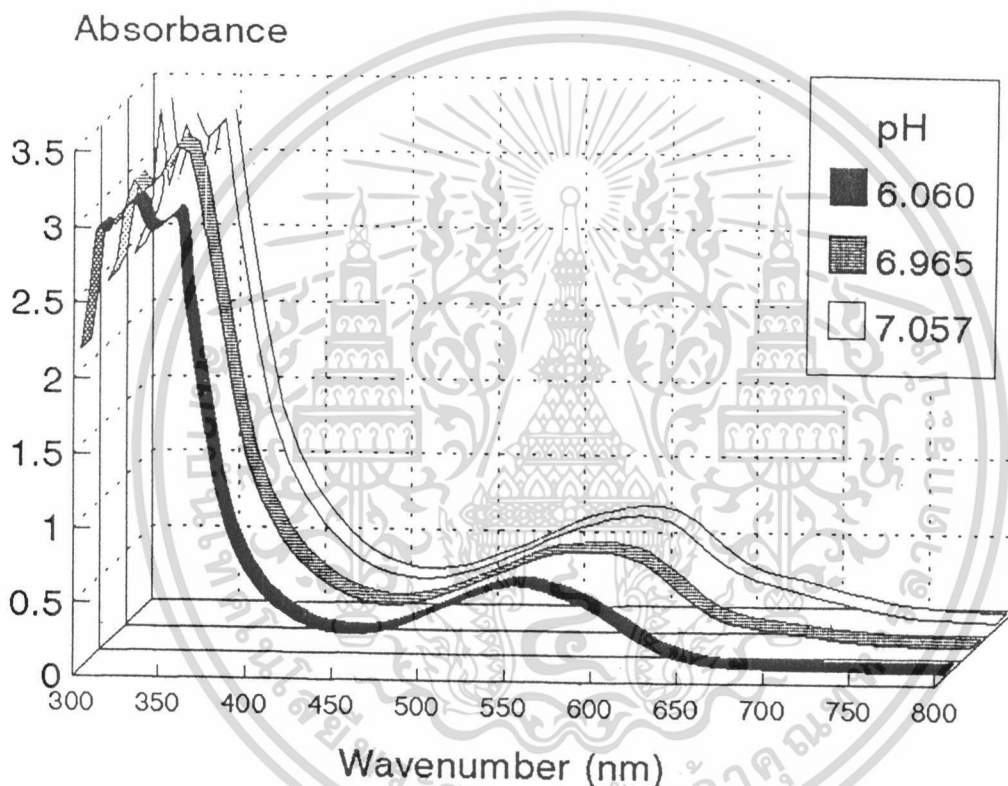


รูปที่ 4.26 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A - A_p)/(A_v - A)]$ กับ pH ของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงของการเปลี่ยนสีจากชมพูไปเป็นม่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.26 จะได้จุดตัดแกน pH มีค่าเท่ากับ 3.46 นั่นคือ pK_n ของสารในช่วงการเปลี่ยนสีจากชมพูเป็นม่วงก็มีค่าเท่ากับ 3.46 ดังนั้นสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % จะมีช่วงการเปลี่ยนสีจากชมพูเป็นม่วงตั้งแต่ค่าพีเอชประมาณ 2.5 ถึง 4.5

4.2.1.12 การหาช่วงการเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 6.0 ถึง 7.0 (สีม่วงไปเป็นสีน้ำเงิน)



รูปที่ 4.27 รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 6.0 ถึง 7.0

เมื่อนำสารที่สกัดได้มาปรับพีเอชให้อยู่ในรูปกรด (สีม่วง) และ รูปเบส (สีน้ำเงิน) แล้วนำมาวัดสเปกตรัมหาค่าความยาวคลื่นที่ทั้งสองรูปมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุด พบว่าค่าความยาวคลื่นที่ 593.0 นาโนเมตรทั้งสองรูปจะมีค่าแอมพลิจูดต่างกันที่สุด (ดูรูปที่ 4.27) จึงนำมาใช้ในการหาค่า pK_n โดยแสดงผลดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าแอมบอร์เบนซ์ของรูปกรด ; A_v (สีม่วง) ที่ 593.0 นาโนเมตรเท่ากับ 0.417

Absorbance unit

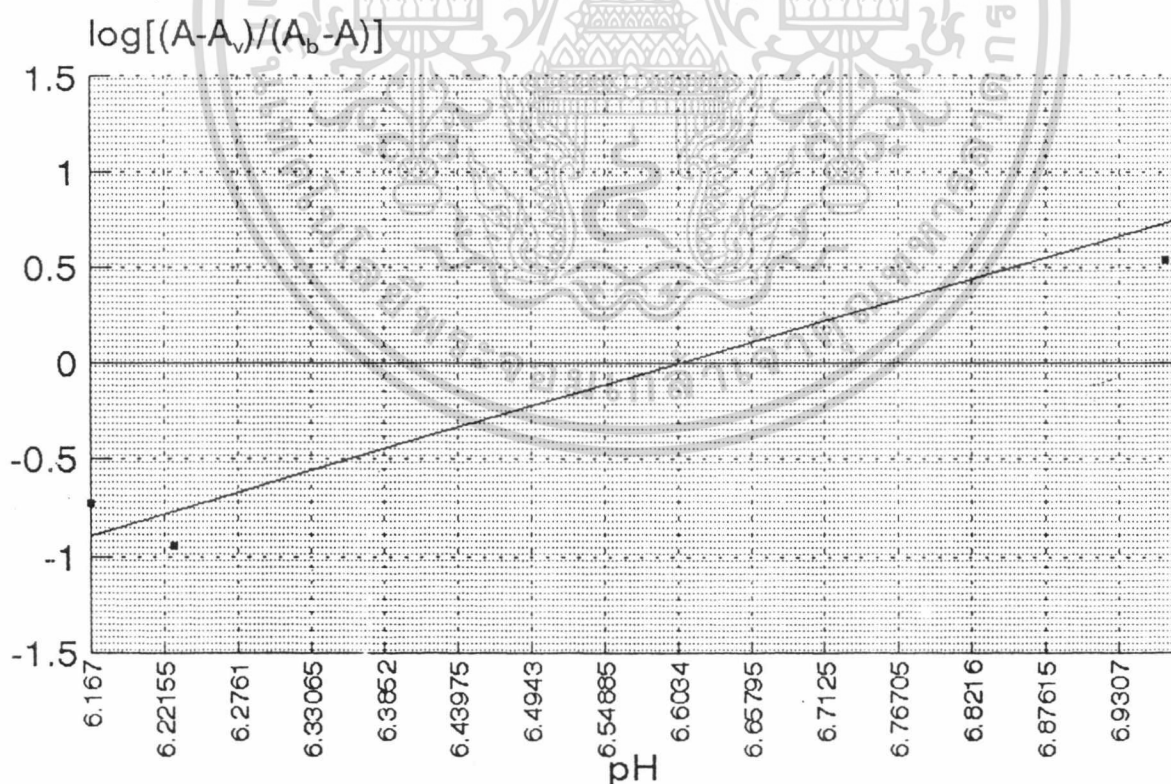
ค่าแอมบอร์เบนซ์ของรูปเบส ; A_b (สีน้ำเงิน) ที่ 593.0 นาโนเมตรเท่ากับ

0.7205 Absorbance unit

ตารางที่ 4.15 ตารางแสดงความสัมพันธ์ค่าพีเอชและค่าแอมบอร์เบนซ์ของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 6.1 ถึง 6.9

pH	Absorbance ; A	$A - A_v$	$A_b - A$	$\log [(A - A_v)/(A_b - A)]$
6.167	0.465	0.048	0.256	- 0.727
6.229	0.448	0.031	0.273	- 0.945
6.965	0.653	0.236	0.068	0.540
6.974	0.691	0.274	0.030	0.961

นำข้อมูลจากตารางที่ 4.15 มาสร้างกราฟระหว่าง $\log [(A - A_v)/(A_b - A)]$ กับ pH เพื่อหาจุดตัดแกน pH ได้กราฟดังรูปที่ 4.28

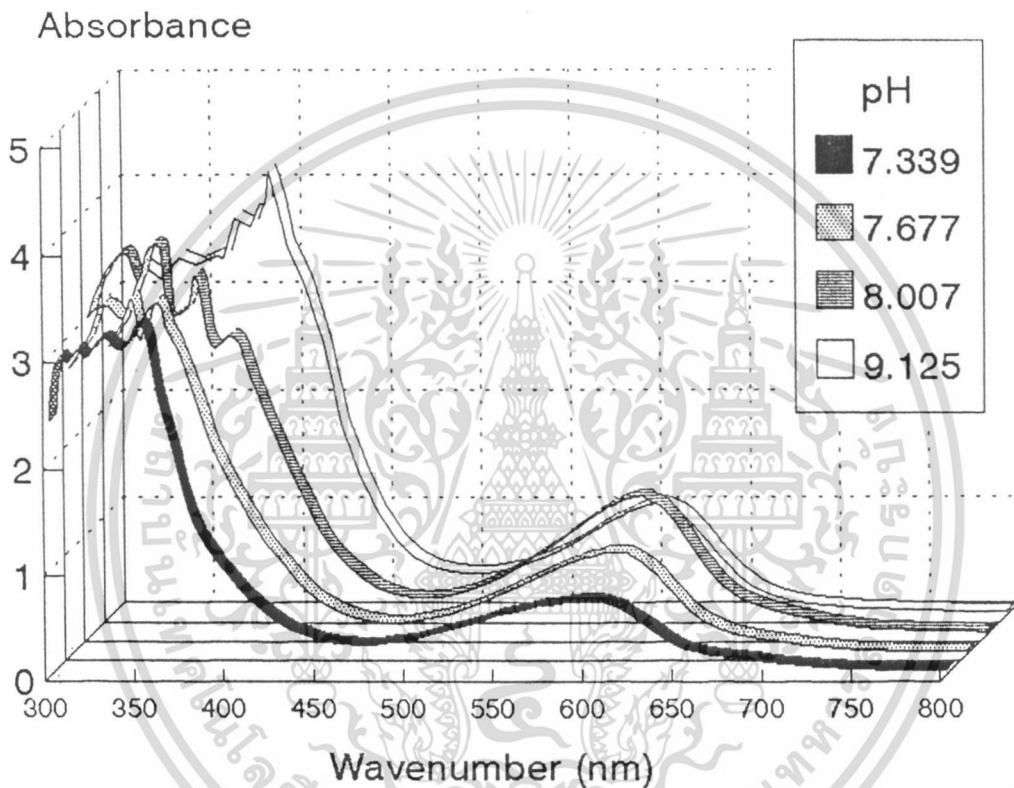


รูปที่ 4.28 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A - A_v)/(A_b - A)]$ กับ pH ของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงของการเปลี่ยนสีจากม่วงไปเป็นน้ำเงิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.2๘ จะได้จุดตัดแกน pH มีค่าเท่ากับ 6.6034 นั่นคือ pK_a ของสารในช่วงการเปลี่ยนสีจากชมพูเป็นม่วงก็มีค่าเท่ากับ 6.6034 ดังนั้นสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % จะมีช่วงการเปลี่ยนสีจากม่วงเป็นน้ำเงินตั้งแต่ค่าพีเอชประมาณ 5.6 ถึง 7.6

4.2.1.18 การหาช่วงการเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีม่วงโดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.3 ถึง 9.1 (สีนํ้าเงินไปเป็นสีเขียว)



รูปที่ 4.29 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.3 ถึง 9.1

เมื่อนำสารที่สกัดได้มาปรับพีเอชให้อยู่ในรูปกรด (สีนํ้าเงิน) และ รูปเบส (สีเขียว) แล้วนำมาวัดสเปกตราค่าความยาวคลื่นที่ทั้งสองรูปมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุดพบว่า ค่าความยาวคลื่นที่ 400.0 นาโนเมตรทั้งสองรูปจะมีค่าแอมพลิจูดต่างกันที่สุด (จากรูปที่ 4.2๙) จึงนำมาใช้ในการหาค่า pK_a โดยแสดงผลดังนี้

ค่าแอมพลิจูดของรูปกรด ; A_a (สีนํ้าเงิน) ที่ 400.0 นาโนเมตรเท่ากับ 0.918 Absorbance unit

ค่าแอมพลิจูดของรูปเบส ; A_b (สีเขียว) ที่ 400.0 นาโนเมตรเท่ากับ 3.462

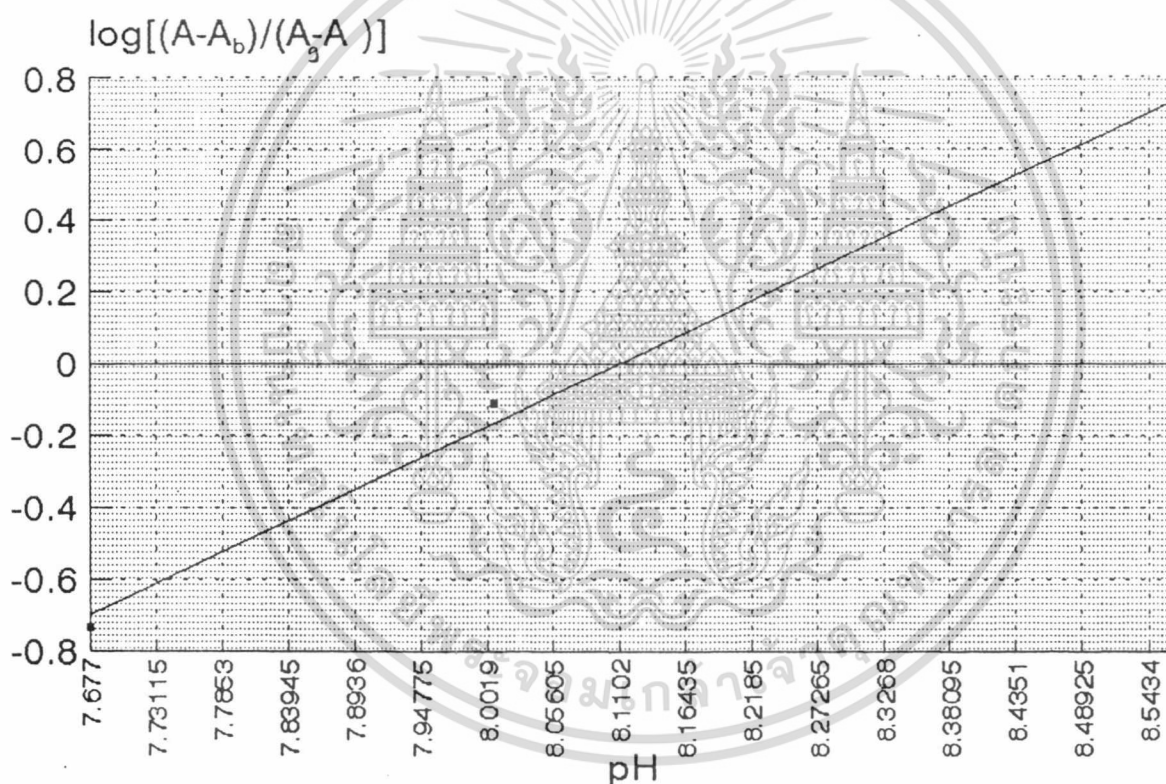
Absorbance unit

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.16 ตารางแสดงความสัมพันธ์ค่าพีเอชและค่าแอบซอร์เบ้นซ์ของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.6 ถึง 8.5

pH	Absorbance ; A	A - A _b	A _y - A	log [(A-A _b)/(A _y -A)]
7.677	1.314	0.396	2.148	- 0.734
8.007	2.028	1.110	1.434	- 0.111
8.566	3.051	2.133	0.411	0.715

นำข้อมูลจากตารางที่ 4.16 มาสร้างกราฟระหว่าง $\log [(A-A_b)/(A_y-A)]$ กับ pH เพื่อหาจุดตัดแกน pH ได้กราฟดังรูปที่ 4.30

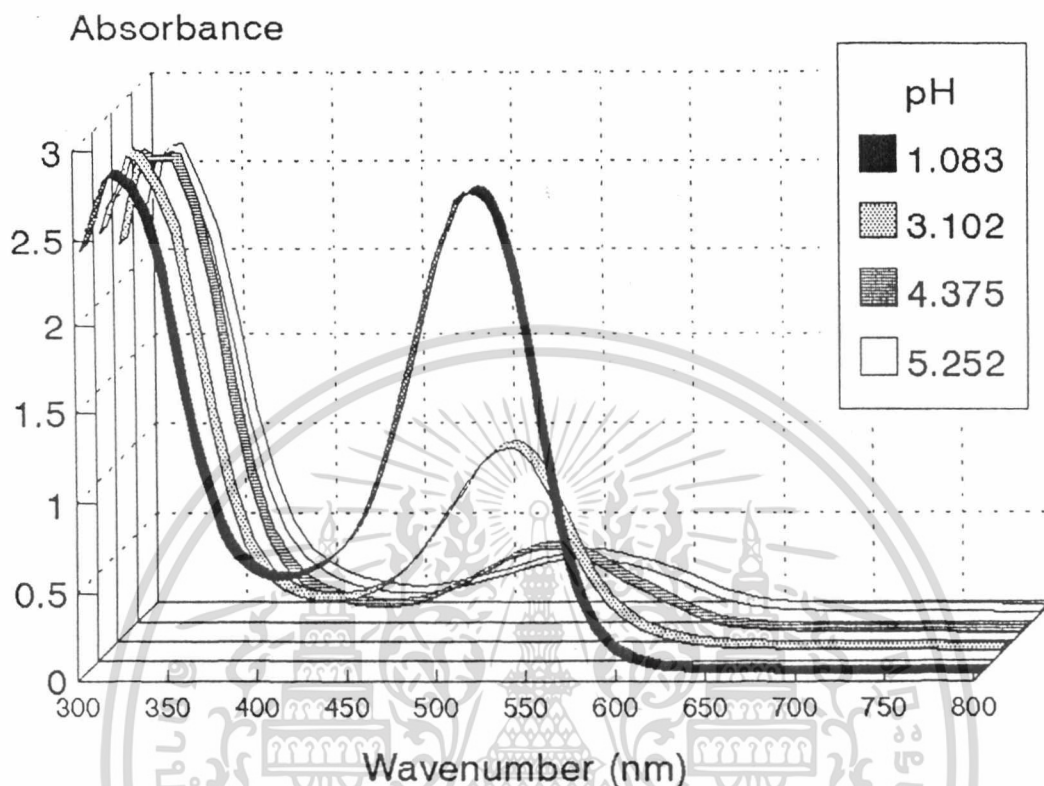


รูปที่ 4.30 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A-A_b)/(A_y-A)]$ กับ pH ของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ในช่วงของการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินไปเป็นเขียว

จากรูปที่ 4.30 จะได้จุดตัดแกน pH มีค่าเท่ากับ 8.1102 นั่นคือ pK_{In} ของสารในช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นเขียวก็มีค่าเท่ากับ 8.1102 ดังนั้นสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % จะมีช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นเขียวตั้งแต่ค่าพีเอชประมาณ 7.1 ถึง 9.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1.14 การหาช่วงการเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้น้ำ
กลั่นในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 2.7 ถึง 5.2 (สีม่วงไปเป็นสีม่วง)



รูปที่ 4.31 รูปแสดงสเปกตร้าของสารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 2.7 ถึง 5.2

เมื่อนำสารที่สกัดได้มาปรับพีเอชให้อยู่ในรูปกรด (สีม่วง) และ รูปเบส (สี
ม่วง) แล้วนำมาวัดสเปกตร้าหาค่าความยาวคลื่นที่ทั้งสองรูปมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุด
พบว่า ค่าความยาวคลื่นที่ 521.0 นาโนเมตรทั้งสองรูปจะมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุด (ดูรูปที่
4.31) จึงนำมาใช้ในการหาค่า pK_m โดยแสดงผลดังนี้

ค่าแอมพลิจูดของรูปกรด ; A_p (สีม่วง) ที่ 521.0 นาโนเมตรเท่ากับ 1.190

Absorbance unit

ค่าแอมพลิจูดของรูปเบส ; A_b (สีม่วง) ที่ 521.0 นาโนเมตรเท่ากับ 0.288

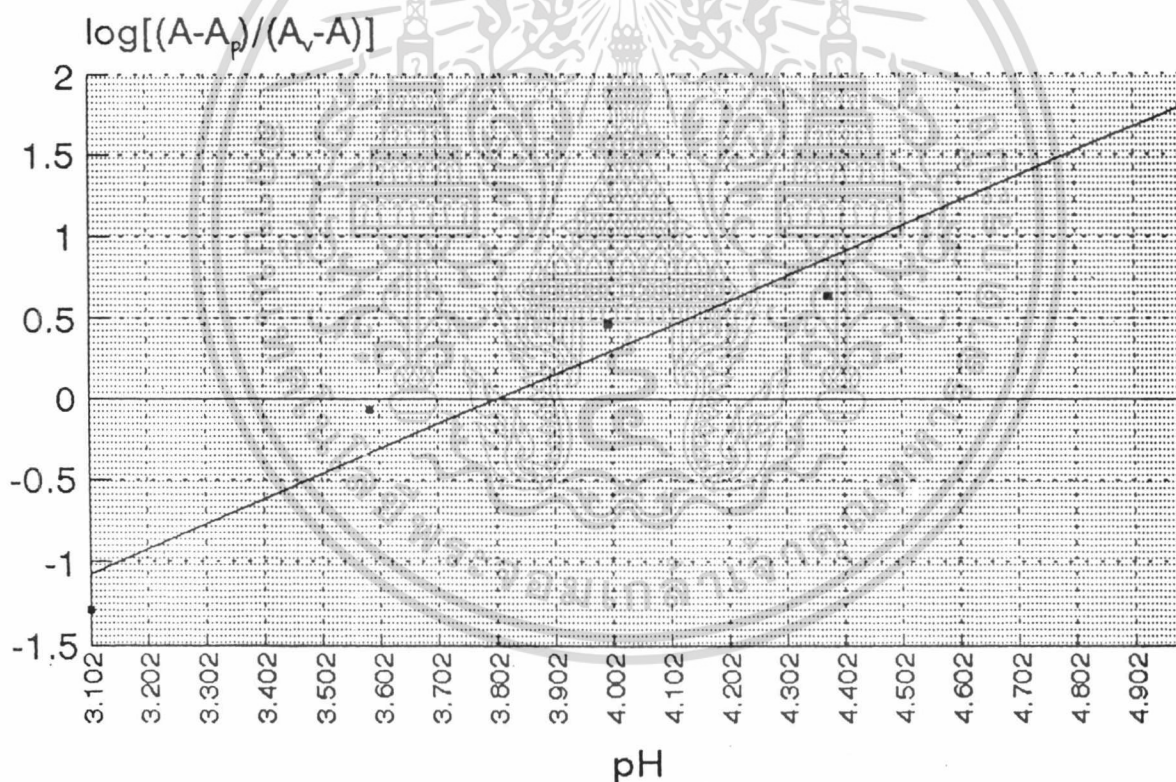
Absorbance unit

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.17 ตารางแสดงความสัมพันธ์ค่าพีเอชและค่าแอบซอร์เบ้นซ์ของสารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 3.1 ถึง 4.9

pH	Absorbance ; A	$A - A_p$	$A_v - A$	$\log [(A - A_p)/(A_v - A)]$
3.102	11467	- 0.044	- 0.858	- 1.290
3.585	0.776	- 0.414	- 0.488	- 0.070
3.996	0.516	- 0.674	- 0.228	0.471
4.375	0.455	- 0.735	- 0.167	0.644
4.985	0.302	- 0.888	- 0.014	1.802

นำข้อมูลจากตารางที่ 4.17 มาสร้างกราฟระหว่าง $\log [(A - A_p)/(A_v - A)]$ กับ pH เพื่อหาจุดตัดแกน pH ได้กราฟดังรูปที่ 4.32

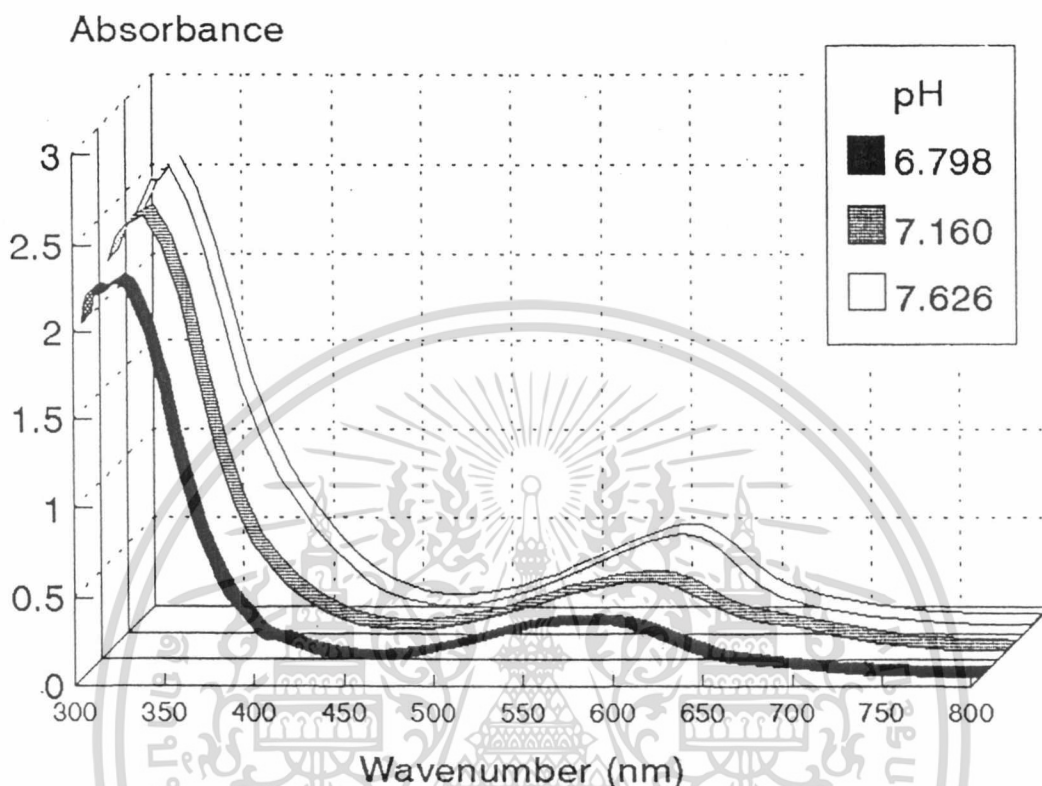


รูปที่ 4.32 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A - A_p)/(A_v - A)]$ กับ pH ของสารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงของการเปลี่ยนสีจากชมพูไปเป็นม่วง

จากรูปที่ 4.32 จะได้จุดตัดแกน pH มีค่าเท่ากับ 3.8072 นั่นคือ pK_{In} ของสารในช่วงการเปลี่ยนสีจากชมพูเป็นม่วงก็มีค่าเท่ากับ 3.8072 ดังนั้นสารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่น จะมีช่วงการเปลี่ยนสีจากชมพูเป็นม่วงตั้งแต่ค่าพีเอชประมาณ 2.8 ถึง 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1.15 การหาช่วงการเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 6.7 ถึง 7.6 (สีม่วงไปเป็นสีน้ำเงิน)



รูปที่ 4.33 รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 6.7 ถึง 7.6

เมื่อนำสารที่สกัดได้มาปรับพีเอชให้อยู่ในรูปกรด (สีม่วง) และ รูปเบส (สีน้ำเงิน) แล้วนำมาวัดสเปกตรัมหาค่าความยาวคลื่นที่ทั้งสองรูปมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุด พบว่า ค่าความยาวคลื่นที่ 605.0 นาโนเมตรทั้งสองรูปจะมีค่าแอมพลิจูดต่างกันที่สุด (ดูรูปที่ 4.33) จึงนำมาใช้ในการหาค่า pK_{in} โดยแสดงผลดังนี้

ค่าแอมพลิจูดของรูปกรด ; A_v (สีม่วง) ที่ 605.0 นาโนเมตรเท่ากับ 0.274

Absorbance unit

ค่าแอมพลิจูดของรูปเบส ; A_b (สีน้ำเงิน) ที่ 605.0 นาโนเมตร เท่ากับ

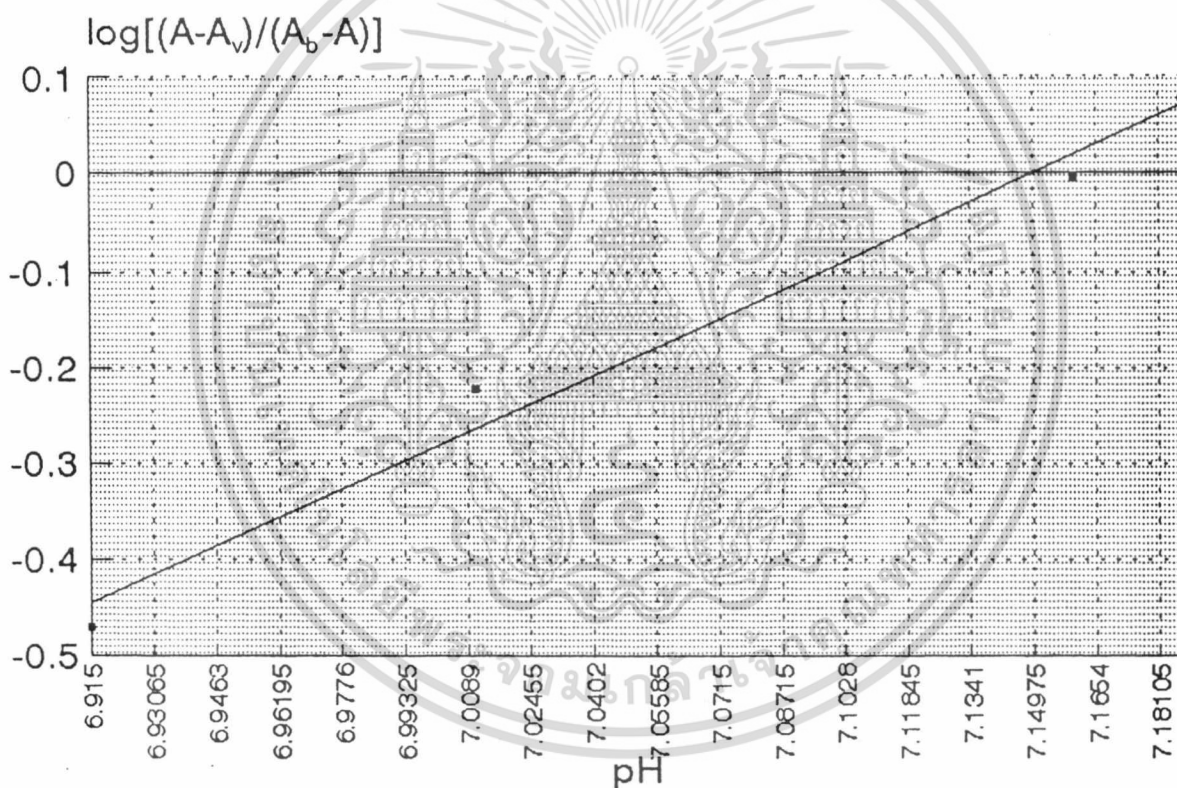
0.5107 Absorbance unit

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 ตารางแสดงความสัมพันธ์ค่าพีเอชและค่าแอมบอร์แมนซ์ของสารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 6.9 ถึง 7.1

pH	Absorbance ; A	$A - A_v$	$A_b - A$	$\log [(A - A_v)/(A_b - A)]$
6.915	0.334	0.060	0.177	- 0.470
7.011	0.363	0.089	0.148	- 0.221
7.160	0.392	0.118	0.119	- 0.004
7.187	0.403	0.129	0.108	0.077

นำข้อมูลจากตารางที่ 4.18 มาสร้างกราฟระหว่าง $\log [(A - A_v)/(A_b - A)]$ กับ pH เพื่อหาจุดตัดแกน pH ได้กราฟดังรูปที่ 4.34

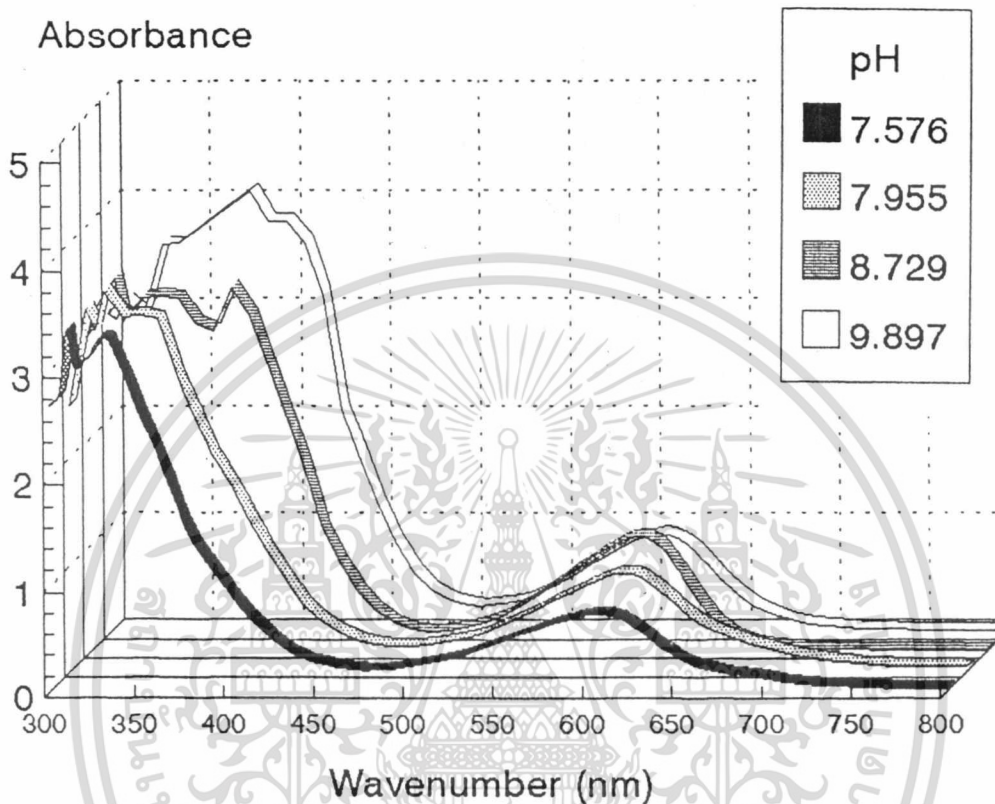


รูปที่ 4.34 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A - A_v)/(A_b - A)]$ กับ pH ของสารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงของการเปลี่ยนสีจากม่วงไปเป็นน้ำเงิน

จากรูปที่ 4.34 จะได้จุดตัดแกน pH มีค่าเท่ากับ 7.14975 นั่นคือ pK_{In} ของสารในช่วงการเปลี่ยนสีจากชมพูเป็นม่วงก็มีค่าเท่ากับ 7.14975 ดังนั้นสารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่น จะมีช่วงการเปลี่ยนสีจากม่วงเป็นน้ำเงินตั้งแต่ค่าพีเอชประมาณ 6.1 ถึง 8.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1.18 การหาช่วงการเปลี่ยนสีของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้น้ำกลั่นในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.6 ถึง 9.8 (สีนํ้าเงินไปเป็นสีเขียว)



รูปที่ 4.35 รูปแสดงสเปกตรากของสารที่สกัดได้โดยใช้นํ้ากลั่น ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.6 ถึง 9.8

เมื่อนํ้าสารที่สกัดได้มาปรับพีเอชให้อยู่ในรูปกรด (สีนํ้าเงิน) และ รูปเบส (สีเขียว) แล้วนำมาวัดสเปกตราค่าความยาวคลื่นที่ทั้งสองรูปมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุดพบว่า ค่าความยาวคลื่นที่ 401.0 นาโนเมตรทั้งสองรูปจะมีค่าแอมพลิจูดต่างกันมากที่สุด (ดูรูปที่ 4.3๕) จึงนำมาใช้ในการหาค่า pK_m โดยแสดงผลดังนี้

ค่าแอมพลิจูดของรูปกรด ; A_b (สีนํ้าเงิน) ที่ 401.0 นาโนเมตรเท่ากับ 0.921 Absorbance unit

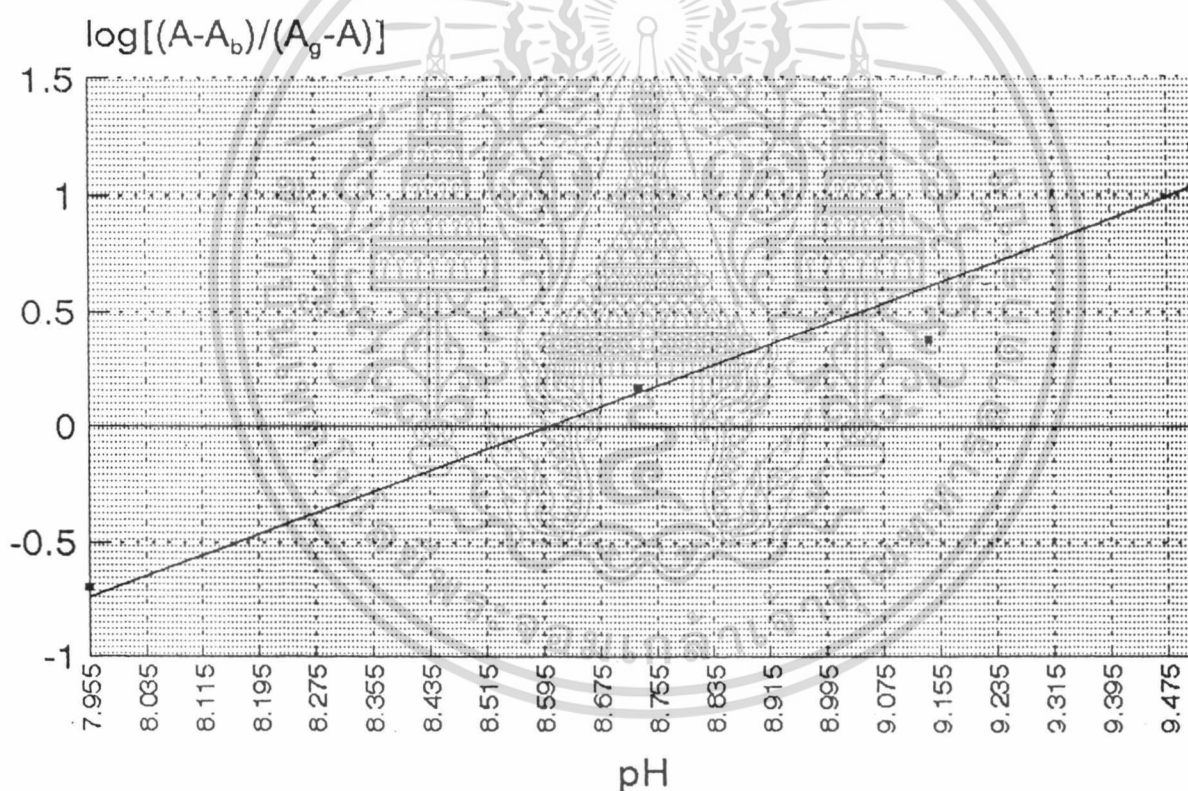
ค่าแอมพลิจูดของรูปเบส ; A_g (สีเขียว) ที่ 401.0 นาโนเมตรเท่ากับ 3.855 Absorbance unit

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 ตารางแสดงความสัมพันธ์ค่าพีเอชและค่าแอบซอร์เบ้นซ์ของสารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 7.9 ถึง 9.5

pH	Absorbance ; A	$A - A_b$	$A_0 - A$	$\log [(A - A_b)/(A_0 - A)]$
7.955	1.415	0.494	2.440	- 0.694
8.729	2.666	1.745	1.189	0.167
9.140	2.983	2.062	0.872	0.374
9.514	3.683	2.762	0.172	1.206

นำข้อมูลจากตารางที่ 4.14 มาสร้างกราฟระหว่าง $\log [(A - A_b)/(A_0 - A)]$ กับ pH เพื่อหาจุดตัดแกน pH ได้กราฟดังรูปที่ 4.36



รูปที่ 4.36 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log [(A - A_b)/(A_0 - A)]$ กับ pH ของสารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่น ในช่วงของการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินไปเป็นเขียว

จากรูปที่ 4.36 จะได้จุดตัดแกน pH มีค่าเท่ากับ 8.6023 นั่นคือ pK_{In} ของสารในช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นเขียวก็มีค่าเท่ากับ 8.6023 ดังนั้นสารที่สกัดได้โดยใช้น้ำกลั่นจะมีช่วงการเปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นเขียวตั้งแต่ค่าพีเอชประมาณ 7.6 ถึง 8.6

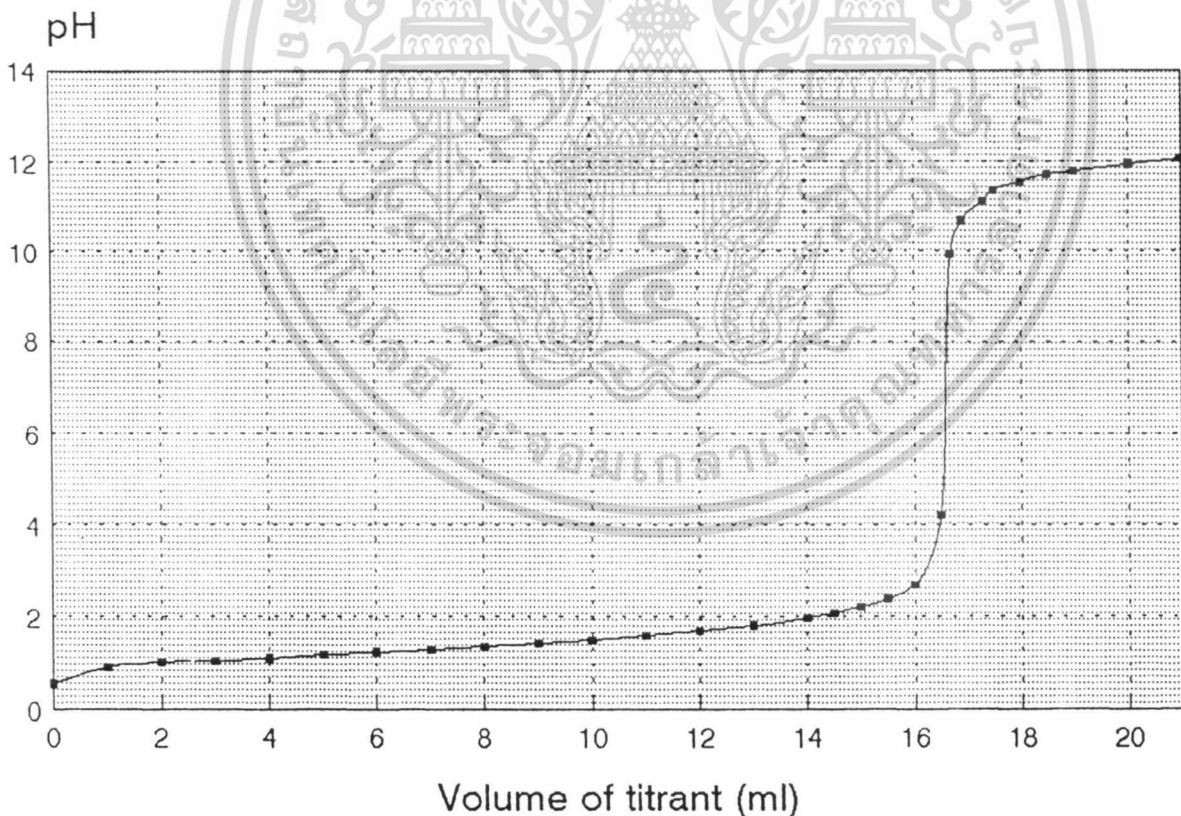
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การนำแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงมาประยุกต์ใช้ในการไทเทรตกรด-เบสลักษณะต่าง ๆ

ในส่วนนี้จะแสดงผลของการนำสารที่สกัดได้ไปใช้ในการไทเทรตกรด-เบสลักษณะต่าง ๆ โดยจะแสดงกราฟการไทเทรต กราฟอนุพันธ์ครั้งที่ 2 ในการหาจุดยุติ (ซึ่งการไทเทรตจะทำ 2 ครั้ง แต่เพื่อไม่ให้เกิดการนำเสนอบริบทข้อมูลอื่นเยื้องกันไปจึงขอแสดงเฉพาะการไทเทรตในครั้งแรก) นอกจากนี้ยังแสดงข้อมูลการไทเทรตปฏิกริยานั้น ๆ ด้วยอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ที่นิยมใช้ในปฏิกริยานั้นเทียบกับสารที่สกัดได้ โดยเลือกเอามาทดสอบ 2 ระบบ คือ ระบบสารละลายเอทานอล 50 % และระบบน้ำกลั่น เพราะตัวทำละลาย 2 ระบบนี้ นิยมใช้ในการเตรียมอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ที่ใช้กันทั่วไป การเปรียบเทียบกับอินดิเคเตอร์สังเคราะห์นั้นจะใช้ค่าเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดของการไทเทรตเป็นตัวตัดสิน สำหรับผลการทดลองในส่วนนี้แสดงดังต่อไปนี้

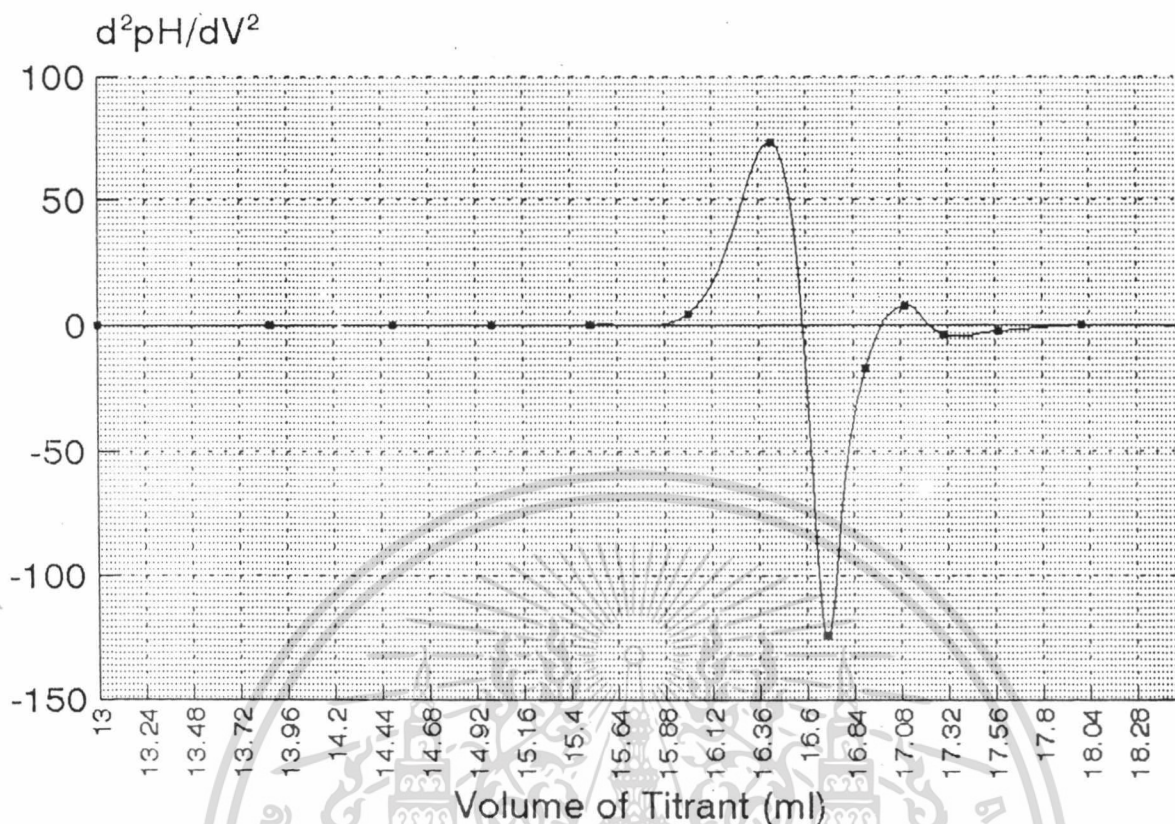
4.2.2.1 การนำแอนโทไซยานินมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในปฏิกริยาไทเทรตระหว่าง

กรดไฮโดรคลอริกกับโซเดียมไฮดรอกไซด์



รูปที่ 4.37 กราฟการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.11 M 20 มิลลิตรด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.13 M

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.38 กราฟอนุพันธ์ครั้งที่ 2 ของการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.11 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.13 M

จากการไทเทรต 2 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ยได้ค่าจุดยุติจากการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตริก คือ ที่ปริมาตรไทเทรนต์เท่ากับ $(16.691 + 16.585) / 2 = 16.638$ หรือประมาณ 16.6 มิลลิลิตร ซึ่งค่านี้จะถือว่าเป็นจุดสมมูลของปฏิกิริยาการไทเทรตสำหรับนำไปคำนวณค่าอินดิเคเตอร์แบลนก์และเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดของการไทเทรต ซึ่งแสดงไว้ในตารางต่อไปนี้

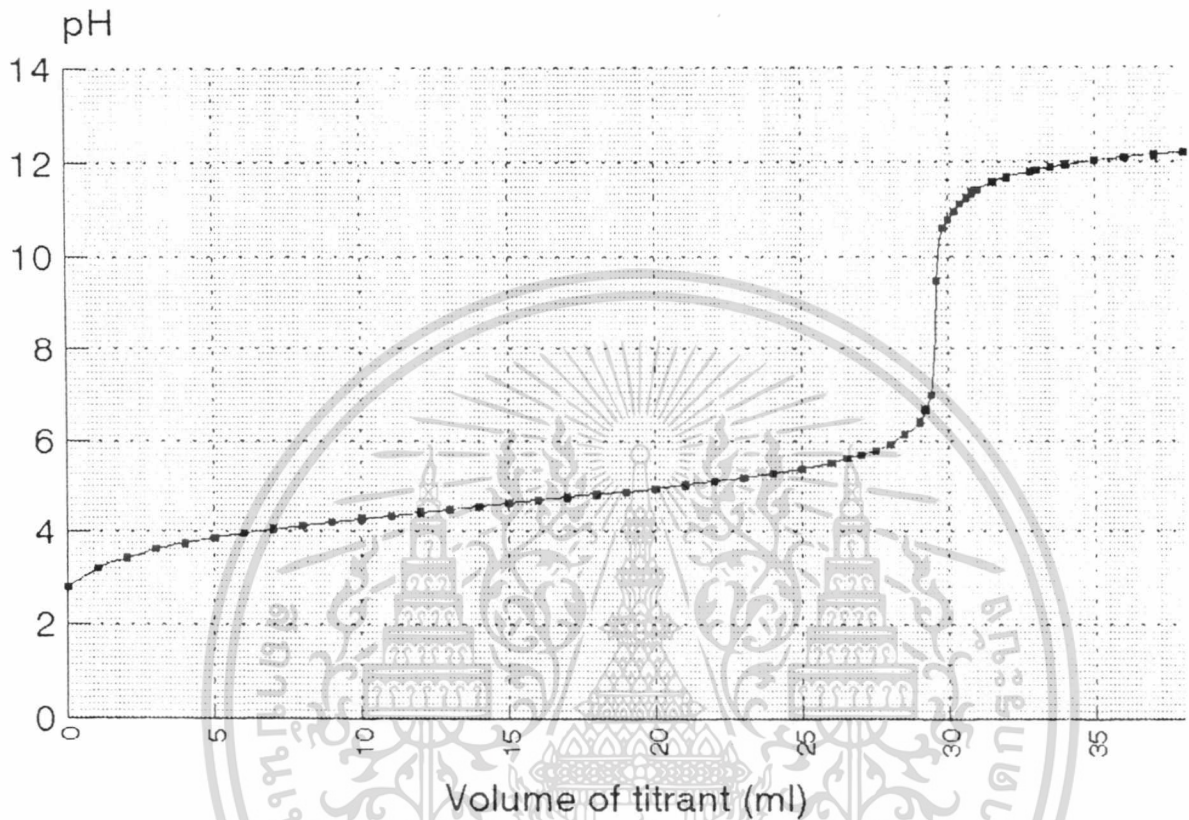
ตารางที่ 4.20 ตารางแสดงข้อมูลการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.11 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.13 M โดยใช้อินดิเคเตอร์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ และสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง

ชนิดของอินดิเคเตอร์ที่ใช้	สีที่เปลี่ยน	ปริมาตรของไทเทรนต์ที่ใช้ไปอ่านจากสเกลบิวเรต (มิลลิลิตร)				ค่าอินดิเคเตอร์แบลนก์ (มิลลิลิตร)	ความผิดพลาดของการไทเทรต
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
$\phi\phi$	Cl \rightarrow P	16.6	16.7	-	16.65	- 0.05	+ 0.3 %
Ex-EtOH	P \rightarrow BG	16.0	16.5	16.3	16.27	+ 0.33	- 1.99 %
Ex-H ₂ O	P \rightarrow BG	16.0	16.4	16.7	16.37	+ 0.23	- 1.39 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

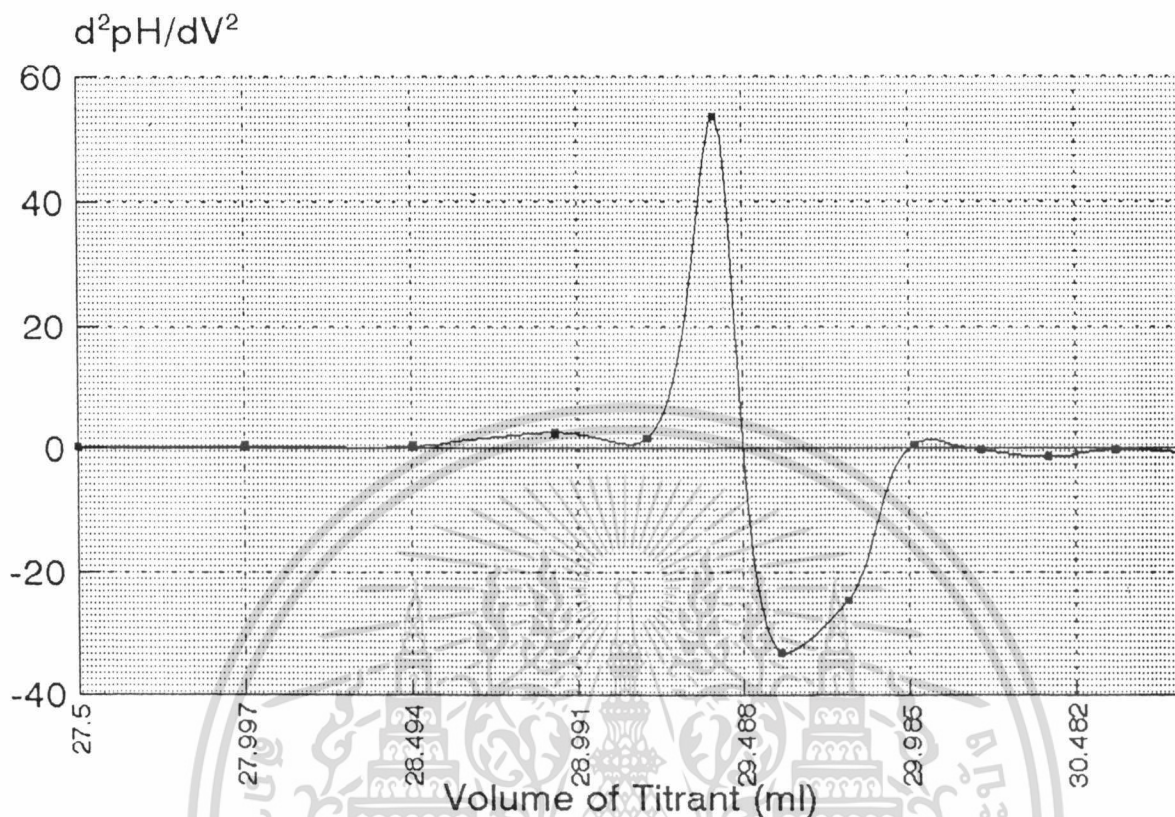
4.2.2.2 การนำแอนโทไซยานินมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในปฏิกิริยาไทเทรตระหว่าง

กรดแอสซิติคกับโซเดียมไฮดรอกไซด์



รูปที่ 4.39 กราฟการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดแอสซิติคเข้มข้น 0.14 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.09 M

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



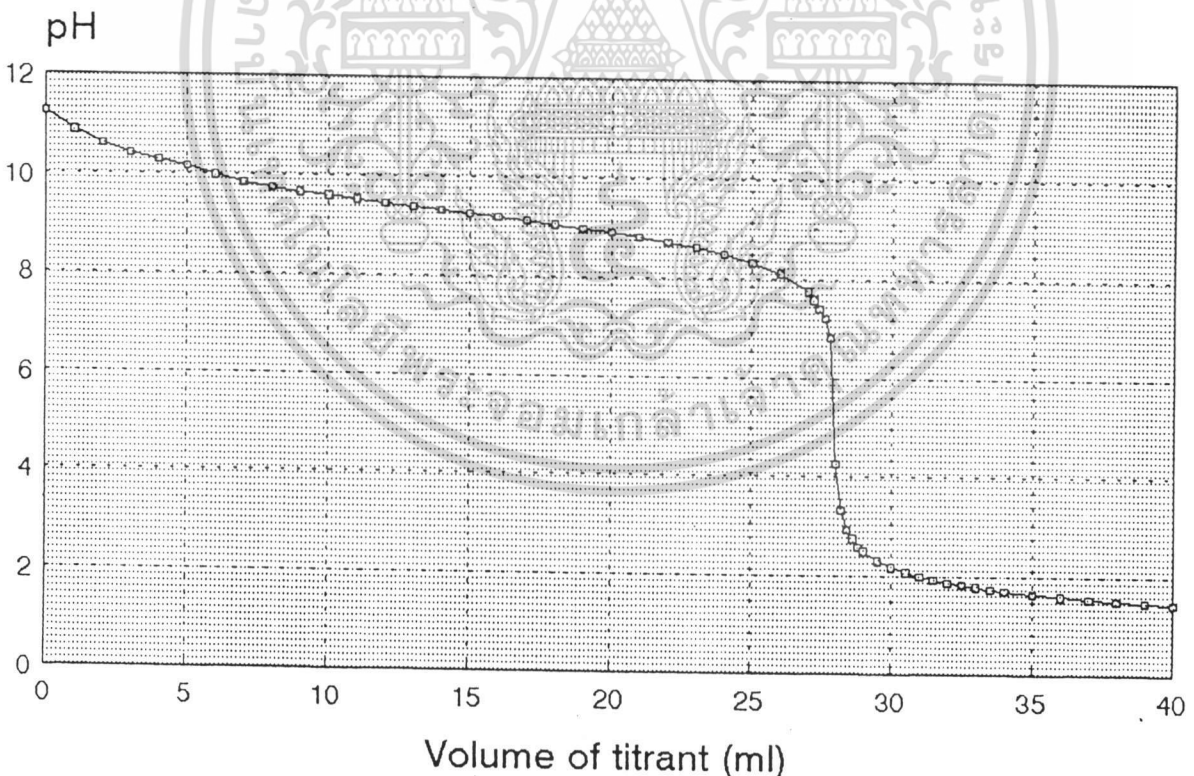
รูปที่ 4.40 กราฟอนุพันธ์ครั้งที่ 2 ของการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดแอสติกเข้มข้น 0.14 M 20 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.09 M

จากการไทเทรต 2 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ยได้ค่าจุดยุติจากการไทเทรตแบบโพเทนชิอเมตริก คือ ที่ปริมาตรไทเทรนต์เท่ากับ $(29.906 + 29.488) / 2 = 29.697$ หรือประมาณ 29.7 มิลลิลิตร ซึ่งค่านี้จะถือว่าเป็นจุดสมมูลของปฏิกิริยาการไทเทรตสำหรับนำไปคำนวณค่าอินดิเคเตอร์เบสลงก์และเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดของการไทเทรต ซึ่งแสดงไว้ในตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 4.21 ตารางแสดงข้อมูลการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดแอซติกเข้มข้น 0.14 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.09 M โดยใช้อินดิเคเตอร์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ และสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง

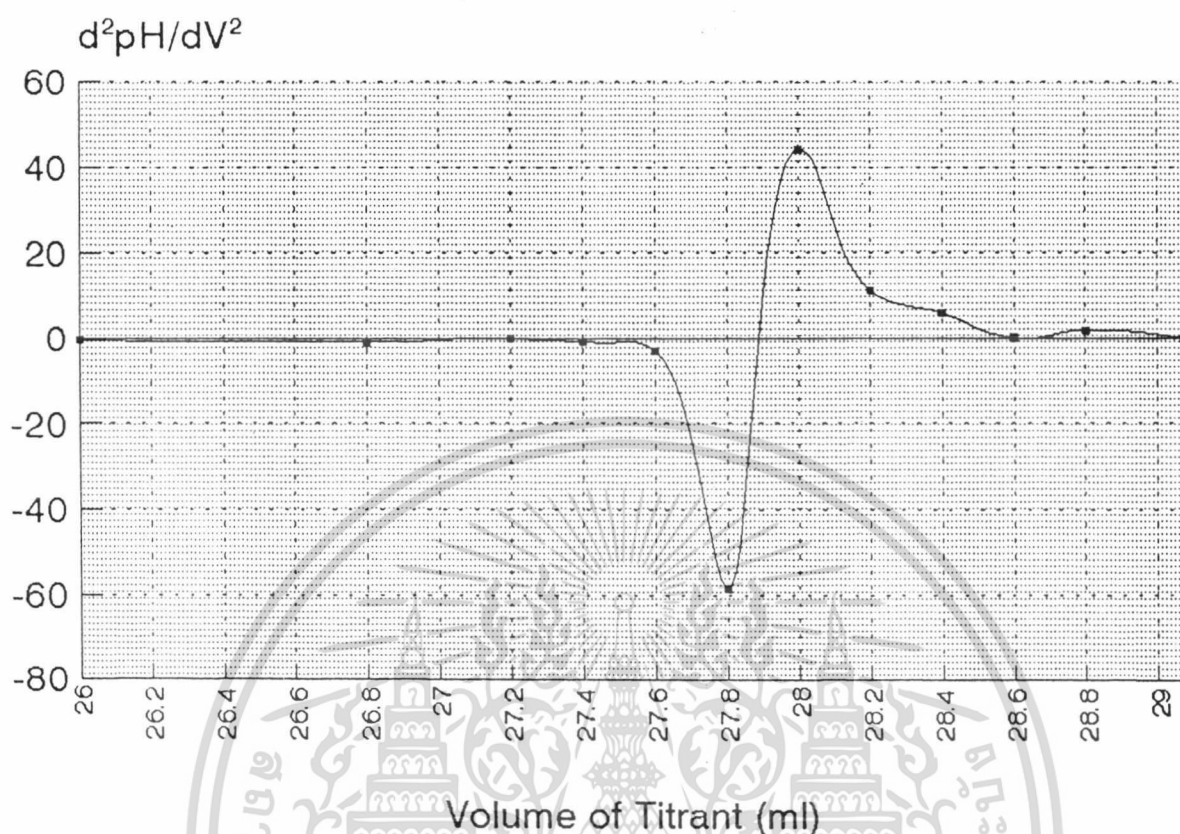
ชนิดของอินดิเคเตอร์ที่ใช้	สีที่เปลี่ยน	ปริมาตรของไทเทรนต์ที่ใช้ไปอ่านจากสเกลบิวเรต (มิลลิลิตร)				ค่าอินดิเคเตอร์แบดจ์ (มิลลิลิตร)	ความผิดพลาดของการไทเทรต
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
$\phi\phi$	Cl \rightarrow P	30.05	30.1	-	30.075	- 0.375	+ 1.26 %
TB	Y \rightarrow LB	30.2	30.25	-	30.225	- 0.525	+ 1.77 %
BB	Y \rightarrow LB	30.0	30.1	-	30.05	- 0.35	+ 1.18 %
Ex-EtOH	P \rightarrow BG	30.7	30.8	30.3	30.6	- 0.9	+ 3.03 %
Ex-H ₂ O	P \rightarrow BG	29.9	30.0	29.95	29.95	- 0.25	+ 0.84 %

4.2.2.3 การนำแอนโทไซยานินมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในปฏิกิริยาไทเทรตระหว่างกรดไฮโดรคลอริกกับสารละลายแอมโมเนีย



รูปที่ 4.41 กราฟการไทเทรตระหว่างสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0.15 M 20 มิลลิลิตรด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.11 M

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.42 กราฟอนุพันธ์ครั้งที่ 2 ของการไทเทรตระหว่างสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0.15 M 20 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.11 M

จากการไทเทรตได้ค่าจุดยุติจากการไทเทรตแบบโพเทนชิอเมตริก คือ ที่ ปริมาตรไทเทรนต์เท่ากับ 27.89 มิลลิลิตร ซึ่งค่านี้จะถือว่าเป็นจุดสมมูลของปฏิกิริยาการไทเทรตสำหรับนำไปคำนวณค่าอินดิเคเตอร์แบบสก็งก์และเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดของการไทเทรต ซึ่งแสดงไว้ในตารางต่อไปนี้

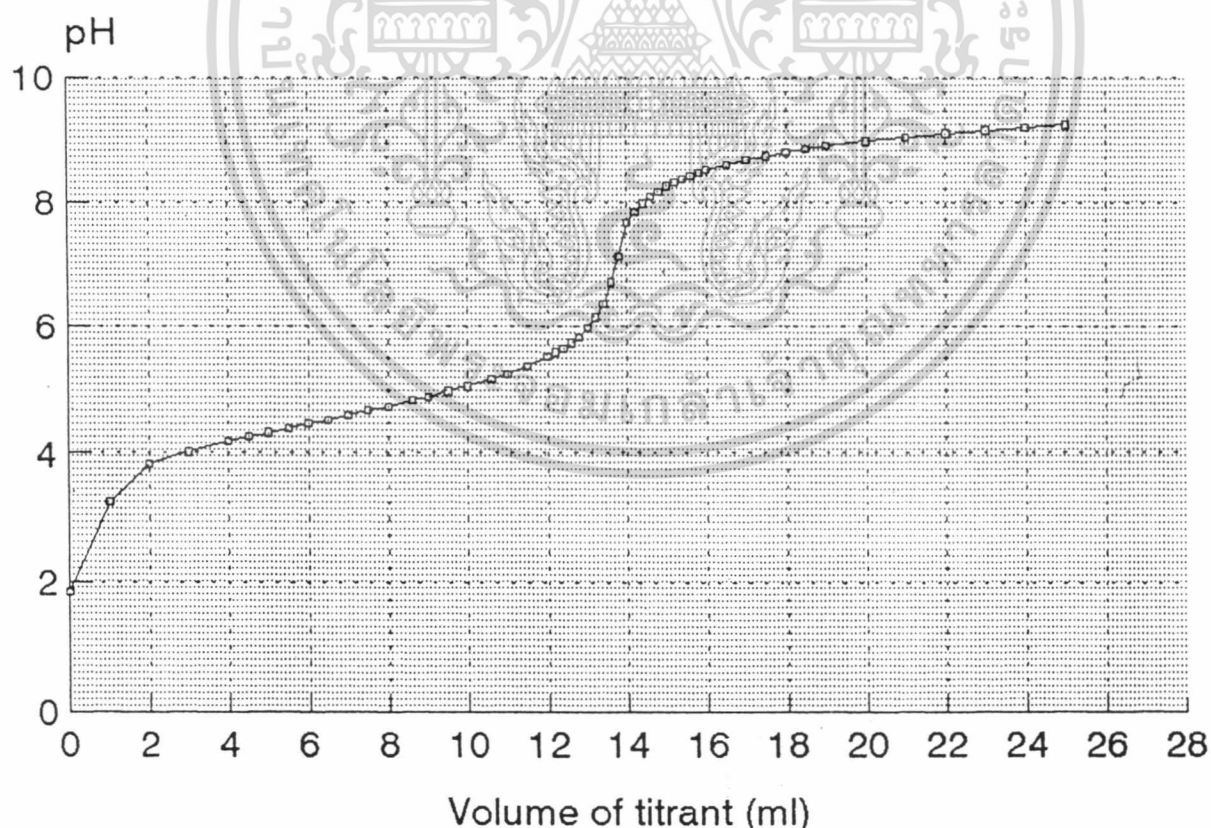
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.22 ตารางแสดงข้อมูลการไทเทรตระหว่างสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0.15 M 20 มิลลิตรด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.11 M โดยใช้อินดิเคเตอร์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ และสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง

ชนิดของอินดิเคเตอร์ที่ใช้	สีที่เปลี่ยน	ปริมาณของไทแทรนต์ที่ใช้ไปอ่านจากสเกลบิวเรต (มิลลิตร)				ค่าอินดิเคเตอร์เบดงก์ (มิลลิตร)	ความผิดพลาดของการไทเทรต
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
MR	Y → P	34.2	34.2	-	34.2	- 6.31	+ 22.62 %
BP	V → Y	31.4	32.4	34.3	32.7	- 4.81	+ 17.25 %
BG	B → Y	34.35	32.15	33.95	33.48	- 5.59	+ 20.04 %
Ex-EtOH	LG → V	33.4	30.65	32.25	32.1	- 4.21	+ 15.1 %
Ex-H ₂ O	LG → V	33.9	34.4	30.8	33.03	- 5.14	+ 18.43 %

4.2.2.4 การนำแอนโทไซยานินมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในปฏิกิริยาไทเทรตระหว่าง

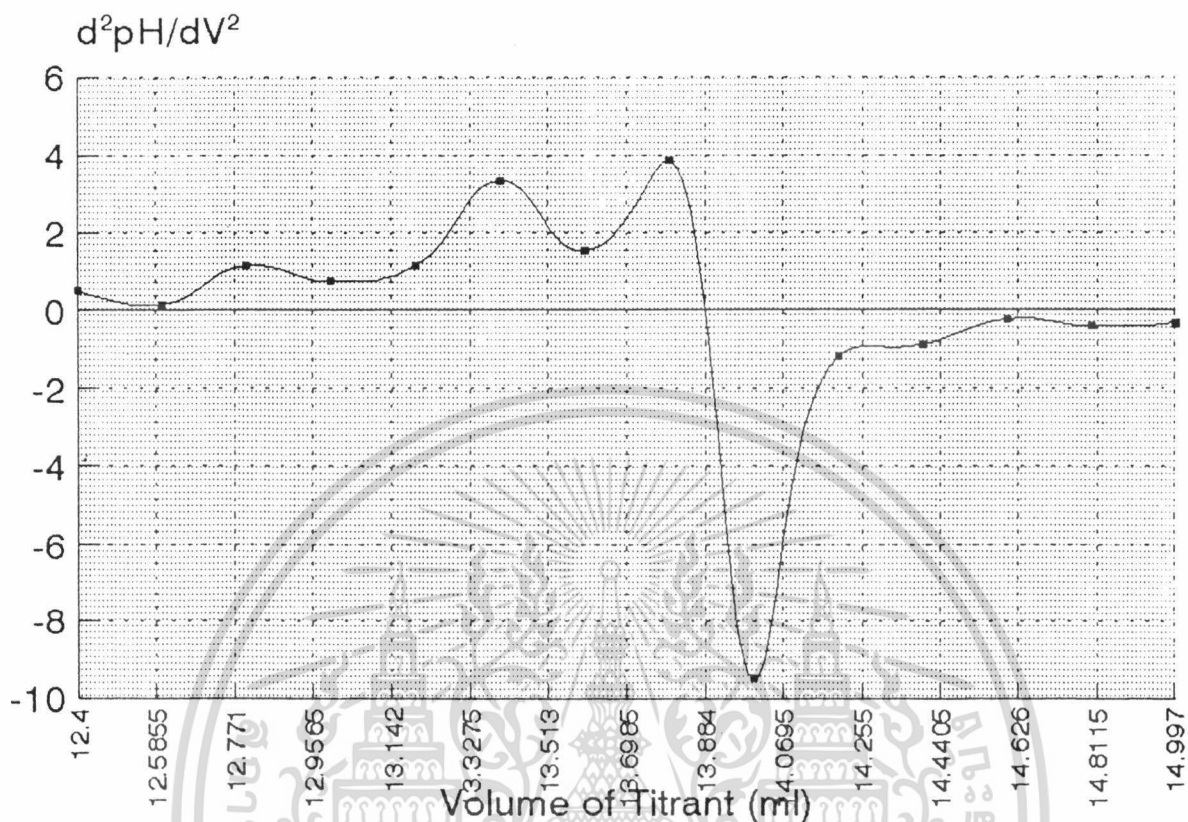
กรดแอสซิติคกับสารละลายแอมโมเนีย



รูปที่ 4.43 กราฟการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดแอสซิติคเข้มข้น 0.14 M 20 มิลลิตรด้วยสารละลาย

แอมโมเนียเข้มข้น 0.18 M

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.44 กราฟอนุพันธ์ครั้งที่ 2 ของการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดแอสติกเข้มข้น 0.14 M 20 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0.18 M

จากการไทเทรต 2 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ยได้ค่าจุดยุติจากการไทเทรตแบบโพเทนชิอเมตริก คือ ปริมาตรไทเทรนต์เท่ากับ $(13.884 + 14.49) / 2 = 14.187$ หรือประมาณ 14.2 มิลลิลิตร ซึ่งค่านี้จะถือว่าเป็นจุดสมมูลของปฏิกิริยาการไทเทรตสำหรับนำไปคำนวณค่าอินดิเคเตอร์แบบลงกัและเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดของการไทเทรต ซึ่งแสดงไว้ในตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 4.22 ตารางแสดงข้อมูลการไทเทรตระหว่างสารละลายกรดแอสติกเข้มข้น 0.14 M 20 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0.18 M โดยใช้อินดิเคเตอร์สังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ และสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง

ชนิดของอินดิเคเตอร์ที่ใช้	สีที่เปลี่ยน	ปริมาตรของไทเทรนต์ที่ใช้ไปอ่านจากสเกลบิวเรต (มิลลิลิตร)				ค่าอินดิเคเตอร์แบบลงกั (มิลลิลิตร)	ความผิดพลาดของการไทเทรต
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย		
BB	Y → LB	15.5	15.4	-	15.45	- 1.25	+ 8.8 %
Ex-EtOH	P → LB	14.7	14.05	13.95	14.22	- 0.02	+ 0.14 %
Ex-H ₂ O	P → LB	14.9	14.4	14.9	14.73	- 0.53	+ 3.73 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ในการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษาวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปและวิจารณ์ผลการนำสารที่สกัดได้มาทำการขจัดหมู่เอซิด (Deacylation)

จากค่าแอมชอร์แบนซ์ของกรดทั้ง 4 ชนิดทำให้อธิบายผลของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดโดยวิธีการแช่หมักต่อโครงสร้างของแอนโทไซยานินที่สกัดได้กล่าวคือ ในกรดอินทรีย์ทั้งสามชนิดที่นำมาใช้เปรียบเทียบกับกรดไฮโดรคลอริกจะมีค่าแอมชอร์แบนซ์ของกรดสูงกว่าทั้งสิ้นแสดงว่าแอนโทไซยานินชนิดแอซีเลตในสารที่สกัดถูกทำลายไปน้อยกว่า แสดงว่าการใช้กรดอินทรีย์ทั้งสามชนิดนี้ดีกว่าและนำมาใช้สกัดแทนกรดไฮโดรคลอริกเพื่อจะได้สารสกัดมีเสถียรภาพสูง

ถ้าพิจารณาในการใช้กรดอินทรีย์ทั้งสามชนิดนี้สกัดแล้ว จากค่าแอมชอร์แบนซ์ของกรดที่ตรวจวัดพบว่าสารที่สกัดด้วยกรดโทรฟลูออโรแอซิดมีค่ามากที่สุดแสดงว่าสารถูกทำลายไปน้อยกว่า จึงใช้เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยวิธีการแช่หมัก เหตุผลในการที่กรดชนิดนี้ทำให้เกิดแอซีเลชันน้อยที่สุดนั้นจากการศึกษารวบรวมข้อมูลไม่พบเลยว่าเพราะเหตุใดจึงนำกรดตัวนี้มาใช้ เพียงแต่พบว่ากรดชนิดนี้จะถูกนำมาใช้มากในการศึกษาเกี่ยวกับแอนโทไซยานินในช่วง 8 - 9 ปีที่ผ่านมา ซึ่งผู้ทำการวิจัยมีความเห็นว่าการกรดชนิดนี้ถูกนำมาใช้มากเพราะกรดชนิดนี้มีความแรงน้อยกว่ากรดไฮโดรคลอริกดังนั้นจึงไม่ทำให้เกิดแอซีเลชันของสารที่สกัดมากนักในขณะที่ก็มีความแรงไม่น้อยเกินไปที่จะทำให้แอนโทไซยานินที่สกัดได้อยู่ในรูปฟลาวิลียมแคทไอออน (Flavylium Cation) ที่เสถียร และจากการสังเกตตลอดการทดลองพบว่าพฤติกรรมต่าง ๆ ของสารที่สกัดได้มีลักษณะคล้ายกันมาก เช่น ลักษณะของสเปกตรัม สีของสารที่สกัดได้ ลักษณะของกากของกะหล่ำที่ผ่านการสกัดแล้ว หรือแม้แต่ลักษณะการลดลงของรูป Flavylium cation เมื่อค่าพีเอชเพิ่มสูงขึ้นในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 2 ถึง 5 จึงทำให้อาจสรุปว่ากรดชนิดนี้ยังคงคุณสมบัติอื่นที่จำเป็นของกรดไฮโดรคลอริกไว้เพียงแต่ทำให้เกิดกระบวนการขจัดหมู่เอซิดน้อยกว่าเท่านั้น

5.2 สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลองนำสารประกอบแอนโทไซยานินมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส

5.2.1 สรุปผลและวิจารณ์ผลการศึกษาหาช่วงการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง

จากการศึกษาหาช่วงการเปลี่ยนสีอย่างคร่าว ๆ จะเห็นว่าสารที่สกัดในระบบตัวทำละลายทั้งหกชนิดจะมีช่วงการเปลี่ยนสีอยู่ 4 ช่วง คือ ช่วงแรกเปลี่ยนจากชมพูเป็นม่วง ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ประมาณ 2.7 ถึง 6.3 ช่วงที่สองเปลี่ยนจากม่วงเป็นน้ำเงิน ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ประมาณ 6.1 ถึง 8.0 ช่วงที่สามเปลี่ยนจากน้ำเงินเป็นสีเขียว ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ประมาณ 7.2 ถึง 10.4 และช่วงที่สี่เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นเหลือง ในช่วงค่าพีเอชตั้งแต่ 12 ขึ้นไป ทั้งนี้แล้วแต่ว่าตัวทำละลายที่ใช้สกัดจะเป็นสารอะไร ซึ่งจากผลที่ได้นี้จะเห็นว่าแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงนี้มีคุณสมบัติเป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบสได้อีกทั้งมีช่วงการเปลี่ยนสีหลายช่วง จึงน่าจะใช้เป็นยูนิเวอร์ซัลอินดิเคเตอร์ได้ด้วยตัวของมันเอง ซึ่งคุณสมบัติอันนี้ต้องมีการศึกษาต่อไป

จากข้อมูลสเปกตรัมที่ได้จะเห็นแนวโน้มที่เหมือน ๆ กันในทุกตัวทำละลายที่ใช้สกัด คือ เมื่อค่าพีเอชสูงขึ้นไปถึงประมาณ 6 ค่าความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) จะเพิ่มมากขึ้น และค่าแอมพลิจูดที่ค่า λ_{max} จะลดลงตามด้วย ข้อมูลตรงนี้แสดงให้เห็นถึงการลดลงของรูป Flavylum Cation สีมชมพูแดง โดยจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นรูป Anhydro Base สีม่วง และเมื่อเพิ่มค่าพีเอชให้สูงขึ้นอีก ค่า λ_{max} จะเพิ่มสูงขึ้นอีก ในขณะที่ค่าแอมพลิจูดที่ค่า λ_{max} นั้นก็จะสูงขึ้นด้วย แสดงว่า Anhydro base เปลี่ยนรูปไปเป็นรูปที่เสถียรขึ้นซึ่งในการทดลองที่ค่าพีเอชตรงบริเวณนี้จะอยู่ประมาณ 6.5 ถึง 8 แต่เมื่อเพิ่มค่าพีเอชสูงขึ้นอีกค่า λ_{max} จะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในขณะที่ค่าแอมพลิจูดที่ค่า λ_{max} จะมีจุดที่สูงสุดค่าหนึ่งแล้วจะเริ่มลดลงเรื่อย ๆ ซึ่งการลดลงจะเริ่มเกิดที่ค่าพีเอชตั้งแต่ 9 ขึ้นไป แสดงว่ารูปที่เสถียรของ Anhydro base เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อไป และจะเกิดการเปลี่ยนแปลงไปจนหมดเมื่อค่าพีเอชสูงกว่า 11 เพราะค่าแอมพลิจูดจะลดลงจนไม่แสดงออกมาเป็นพีค (เป็น base line) ในขณะเดียวกันในช่วงตั้งแต่พีเอชประมาณ 8 จะเกิดพีคขึ้นใหม่ 1 พีคที่ประมาณ 380 นาโนเมตร และเมื่อเพิ่มพีเอชขึ้นเรื่อย ๆ พีคนี้ก็จะมียค่า λ_{max} และค่าแอมพลิจูดที่ค่า λ_{max} สูงขึ้นเรื่อย ๆ ซึ่งพีคที่เกิดขึ้นใหม่นี้คือ รูปที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของ Anhydro base นั่นเอง

จากข้อมูลที่ได้นี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Wolf¹⁵ ที่ได้มีการศึกษาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง และอาศัยการศึกษาเกี่ยวกับการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนแปลงรูปร่างของ Anhydro base ของ Jurd และ Geissman²⁷ และการศึกษาเกี่ยวกับปฏิกิริยาไฮดรอกซีของอนุพันธ์ไฮดรอกซี (Hydroxy) และเมทอกซี (Methoxy) ของ Flavylium ion โดย McClelland และ McGall³⁰ ทำให้พอที่จะนำมาประยุกต์ใช้อธิบายปรากฏการณ์ได้บ้างคือ รูป Anhydro Base สีม่วงจะเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็น Ionized Anhydro base และพร้อมกันนั้นจะมีบางส่วนเกิดการสลายตัวให้เป็น Chalcone ด้วย ซึ่งจะเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อพีเอชสูงขึ้น เมื่อ Anhydro base กลายเป็นรูป Ionized จนหมดแล้ว (จุดที่ค่าแอมบอร์เบนซ์มีค่าสูงสุด ซึ่งอยู่ที่ค่าพีเอชประมาณ 9) แต่ค่าพีเอชยังมีค่าสูงขึ้นอีกจะเกิดการแตกวงออกได้ผลิตภัณฑ์เป็น Chalcone เช่นกัน

ในตอนท้ายของการทดลองส่วนนี้ได้ทำการหาค่า pK_{In} ของสารที่สกัดได้และช่วงการเปลี่ยนสีในช่วงน้ำเงินเป็นเขียวของทุกระบบตัวทำละลายที่ใช้สกัด จะเห็นว่า จะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 7.1 ถึง 10.7 ทั้งนี้ขึ้นกับตัวทำละลายที่ใช้สกัด ซึ่งถ้าเปรียบเทียบกับอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ที่ใช้กันทั่วไปแล้ว น่าจะนำมาใช้แทนฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein) , 1 - แนฟทอลส์ฟทาลีน (1 - Naphtholphthalein) และ ไทมอล์ฟทาลีน (Thymolphthalein) ได้เพราะมีช่วงการเปลี่ยนสีใกล้เคียงกัน และในกรณีของน้ำและสารละลายเอทานอลเข้มข้น 50 % ซึ่งมักเป็นตัวทำละลายที่ใช้เตรียมสารละลายอินดิเคเตอร์โดยทั่วไป ได้ทำการหาค่า pK_{In} ของสารที่สกัดได้ในช่วงการเปลี่ยนสีจากชมพูเป็นม่วงและม่วงเป็นน้ำเงินด้วยพบว่า ในช่วงชมพูเป็นม่วงนั้นจะมีช่วงการเปลี่ยนสีตั้งแต่ 2.5 ถึง 4.8 (แล้วแต่ตัวทำละลาย) ซึ่งอาจนำมาใช้แทน Bromphenol Blue , Congo Red และ Methyl Orange ได้ และช่วงม่วงเป็นน้ำเงินจะมีช่วงการเปลี่ยนสีตั้งแต่ 5.6 ถึง 8.1 ซึ่งอาจนำมาใช้แทน Bromthymol Blue , Neutral Red และ Phenol Red ได้ ซึ่งต้องมีการทดลองศึกษาต่อไป

5.2.2 สรุปผลและวิจารณ์ผลทดลองนำแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงมาประยุกต์ใช้ในการไทเทรตกรด-เบสลักษณะต่าง ๆ

จากผลการทดลองนำมาใช้ในการไทเทรตกรดเบสจริง ๆ พบว่าสารที่สกัดได้ให้ความผิดพลาดสูงอยู่ สาเหตุหลักน่าจะมาจากตัวผู้ทำการทดลองเองไม่มีประสบการณ์ในการใช้สารที่สกัดนี้มาก่อนจึงทำให้การไทเทรตแต่ละครั้งค่าที่ได้นับว่าห่างกันมาก และอีกประการหนึ่งการดูจุดยุติที่เห็นได้ไม่ชัดเจนของสารที่สกัด เพราะสารที่สกัดได้นำมาใช้โดยไม่ได้ผ่านการทำให้เข้มข้นขึ้นเนื่องจากสารที่สกัดได้จะอยู่ในรูป Anhydro base ซึ่งไม่เสถียรต่อความร้อน ดังนั้นจึงไม่สามารถใช้เครื่องระเหยแบบหมุนได้เพราะถึงแม้จะลดความดันแต่ตัวทำละลายเป็นน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิของเครื่องอ่างน้ำก็ยังคงตั้งค่อนข้างสูง และทางผู้ทำการทดลองไม่มีอุปกรณ์ที่จะทำสารให้เข้มข้นโดยไม่ต้องใช้ความร้อน ดังนั้นจึงใช้ลักษณะที่สกัดได้เลยซึ่งต้องใช้จำนวนหยดมาก เพราะเมื่อไทเทรตไปสีจะจางลงโดยเฉพาะรูปสีม่วงจะซีดจางมากแต่เมื่อเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินและเขียวสีจะเปลี่ยนอย่างรวดเร็วและเข้มข้นเล็กน้อย จึงทำให้การไทเทรตแต่ละครั้งห่างกันมาก

แต่จากข้อมูลการไทเทรตในบางปฏิกิริยานับว่าดีมาก เช่นในการไทเทรตกรดแอสติกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์สารที่สกัดด้วยน้ำให้เปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดน้อยกว่าอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ตัวอื่น ๆ และในการไทเทรตกรดแอสติกด้วยสารละลายแอมโมเนียสารที่สกัดด้วยน้ำและด้วยเอทานอลจะทำให้ค่าต่ำกว่ามาก จากข้อมูลตรงนี้ผู้ทำการทดลองคิดว่าในระบบที่มีกรดอ่อนหรือเบสอ่อนอยู่ น่าจะส่งผลทำให้การใช้แอนโทไซยานินมีความถูกต้องขึ้น ซึ่งต้องศึกษาต่อไป แต่อาจจะเกี่ยวกับความไม่เสถียรของรูป Anhydro base เพราะในการไทเทรตพวกนี้จะมีปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเกลือที่เกิดขึ้นซึ่งเป็นสาเหตุทำให้การใช้อินดิเคเตอร์สังเคราะห์มีปัญหามองเห็นจุดยุติได้ไม่ค่อยชัดเจนเนื่องจากความว่องไวในการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชที่ละน้อย ๆ ไม่ดีสู้แอนโทไซยานินรูป Anhydro base ไม่ได้เพราะรูป Anhydro base มีความไม่เสถียรหรือที่จะกลับไปสู่รูป Flavylium Cation สีแดง หรือรูป Ionized Anhydro Base สีน้ำเงิน ก็ได้ขึ้นกับค่าพีเอชและผลของการเกิดไฮโดรไลซิส

5.3 ข้อเสนอแนะ

สำหรับผู้สนใจจะทำการศึกษาต่อไป ผู้ทำการทดลองมีข้อเสนอแนะแนวทางและข้อเสนอความคิดเห็นในเรื่องดังต่อไปนี้

5.3.1 ในเรื่องของการตรวจสอบการดีแอกซีเลตของสารที่สกัด ควรจะทำการแยกแอนโทไซยานินชนิดแอกซีเลตออกมาให้ได้ก่อนและจะดียิ่งถ้าสามารถสกัดออกมาได้เป็นของแข็งแล้วนำมาทดสอบกับตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เพื่อจะได้ข้อมูลที่ถูกต้องยิ่งขึ้น และมีสารรบกวนน้อยกว่าที่ได้ทำการทดลองไว้ เนื่องจากในการทดลองนี้ไม่สามารถทำการเตรียมแอนโทไซยานินให้อยู่ในรูปของแข็งได้จึงใช้ในลักษณะสารที่สกัดได้ อีกทั้งวิธีในการตรวจหาหมู่กรดที่หลุดออกมาจากการทำ Alkaline Hydrolysis ควรจะรัดกุมกว่านี้ และจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการควบคุมมาตรฐานมาเทียบด้วย ตลอดจนศึกษาหาวิธีที่เหมาะสมในการตรวจวัดกรดที่หลุดออกมาด้วย เนื่องจากเวลาในการศึกษามีจำกัดข้อมูลในจุดนี้จึงเวลาศึกษาสั้นกว่าน้อยจึงใช้วิธีง่าย ๆ หาออกมาเป็นค่าคร่าว ๆ แทน

5.3.2 ในเรื่องของการหาช่วงการเปลี่ยนสีเนื่องจากเวลาจำกัดจึงหาได้ไม่ครบทุกช่วงและทุกระบบตัวทำละลาย ดังนั้นสำหรับผู้สนใจอาจทำการหาช่วงการเปลี่ยนสีให้ครบ โดยแนะนำว่าควรจะปรับค่าพีเอชให้ได้รูปกรดและรูปเบสจริง ๆ นั้นเป็นพิเศษในช่วงสีม่วงและน้ำเงิน ควรจะทำการคำนวณค่าพีเอชที่เปลี่ยนสีให้ได้ด้วย และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปรับค่าพีเอชทีละน้อยแล้วหาค่าแอมพลิจูดแบนด์ที่ค่า λ_{max} ทำซ้ำไปเรื่อย ๆ จนรู้ค่าที่แน่นอนในการปรับพีเอชโดยที่สีม่วงจะต้องให้ค่าแอมพลิจูดแบนด์ที่ค่า λ_{max} ต่ำสุดจริง ๆ และระบบที่นำศึกษาต่อ คือ ระบบ 4 M ของ NaCl เพราะจะสังเกตได้ว่าในช่วงท้าย ๆ จะแตกต่างจากระบบอื่น ๆ คือ ค่า λ_{max} จะเริ่มน้อยลงเรื่อย ๆ เมื่อพีเอชมากกว่า 12 และค่าแอมพลิจูดแบนด์ที่ค่า λ_{max} จะสูงขึ้นเรื่อย ๆ อาจเกิดการเปลี่ยนรูปของ Chalcone ที่เกิดขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนรูปนี้จะไม่เกิดในระบบตัวทำละลายอื่น ๆ คาดว่าเนื่องมาจากการมีไอออนไฮดรอกไซด์อยู่ เพราะแอนโทไซยานินบางชนิดสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนของโลหะแอลคาไลน์และแอลคาไลน์เอิร์ทได้ดี โดยมีปัจจัยสำคัญที่กำหนดการเกิด คือ ลักษณะของโครงสร้างและค่าพีเอช ซึ่งสมควรจะมีการศึกษาต่อไป

5.3.3 เนื่องจากช่วงเปลี่ยนสีหลายช่วง ดังนั้นสมควรจะได้มีการทดลองทำกระดาษยูนิเวอร์ซัลอินดิเคเตอร์โดยใช้สารสกัดจากกะหล่ำปลีสีม่วง เพราะผู้ทำการทดลองทดลองดูแล้วว่าสารที่สกัดสามารถเกาะติดบนกระดาษกรองได้ดีพอสมควรเมื่อระเหยตัวทำละลาย (ซึ่งแนะนำว่าควรเป็นเอทานอล หรือเมทานอลก็ได้เพราะสีจะเข้มกว่าใช้น้ำ) และควรทดสอบเสถียรภาพของสารที่ติดอยู่บนกระดาษด้วย

5.3.4 ในส่วนของการนำมาใช้ในการไทเทรตควรจะทำสารให้เข้มข้นเสียก่อนแต่ทางที่ดีควรจะหาทางเตรียมสารให้อยู่ในลักษณะของแข็งให้ได้ ไม่ว่าจะทำการ Deep-Freeze หรือวิธีอื่น ๆ และควรศึกษา คือ ตัวทำละลายที่มาใช้เพราะถ้าใช้น้ำอย่างเดียวเสถียรภาพจะไม่ดี จากที่ทำการทดลองพบว่าสารที่สกัดด้วยน้ำจะต้องเก็บในขวดสีชาเมื่อไม่ใช้ต้องแช่เย็นตลอด หากทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเกิน 1 วันจะใช้ไม่ได้ทันที ซึ่งลักษณะนี้จะไม่เกิดในเอทานอลแต่การใช้เอทานอลความเข้มข้นที่สูงเกินไปจะเป็นการเพิ่มความเป็นกรดของตัวอินดิเคเตอร์เองจะทำให้การไทเทรตผิดพลาดได้สูง และถ้าหากศึกษาหาวิธีได้แล้วคาดว่าน่าจะทำให้การไทเทรตโดยใช้แอนโทไซยานินมีความถูกต้องขึ้น

5.3.5 ควรมีการศึกษาทดลองไทเทรตในปฏิกิริยาที่ได้ทำไปแล้วซ้ำอีกครั้งเนื่องจากเวลาที่จำกัดจึงไทเทรตได้เพียง 3 ครั้ง และไม่มีเวลาที่จะมาแก้ไขใหม่ ข้อมูลจึงไม่ค่อยน่าเชื่อถือได้นัก โดยเฉพาะในปฏิกิริยาที่มีกรดอ่อนหรือเบสอ่อนเพื่อที่จะได้รู้แน่ชัดว่ามีความถูกต้องกว่าจริงหรือไม่และเหตุผลอะไรที่จะมาสนับสนุน

ภาคผนวก

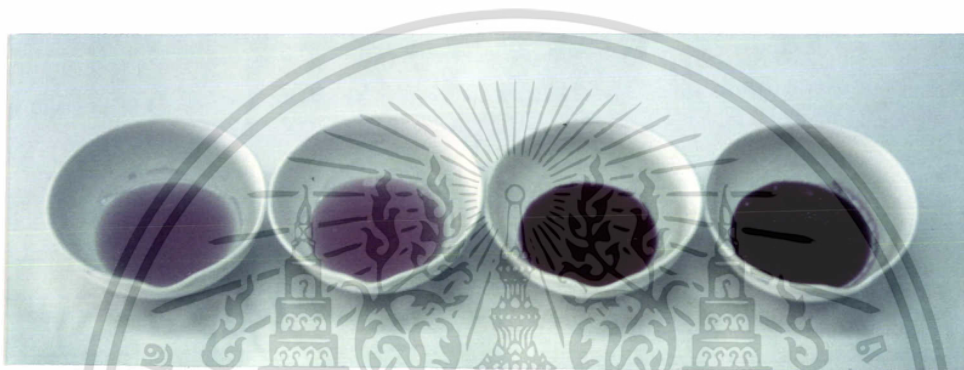
ภาคผนวก ก : รูปแสดงลักษณะของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้ตัว
ทำละลายที่เป็นกรดและเป็นกลาง

ภาคผนวก ข : รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้
ตัวทำละลายที่เป็นกรด

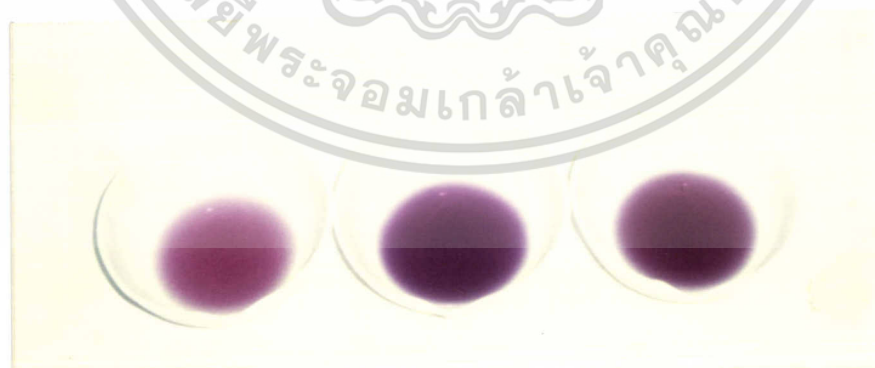
ภาคผนวก ค : รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้
ตัวทำละลายที่เป็นกรดที่ผ่านการทำปฏิกิริยา Alkaline hydrolysis
แล้ว

ภาคผนวก ก

รูปแสดงลักษณะของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นกรด และเป็นกลาง



รูปแสดงลักษณะของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นกรดในเมทานอลเข้มข้น 1% โดยชนิดของกรดในตัวทำละลายที่ใช้สกัดเรียงจากซ้ายไปขวาของรูป คือ กรดซัลฟิวริก กรดทาร์ทาริก กรดไทรฟลูออโรแอซิดิก และกรดไฮโดรคลอริก ตามลำดับ

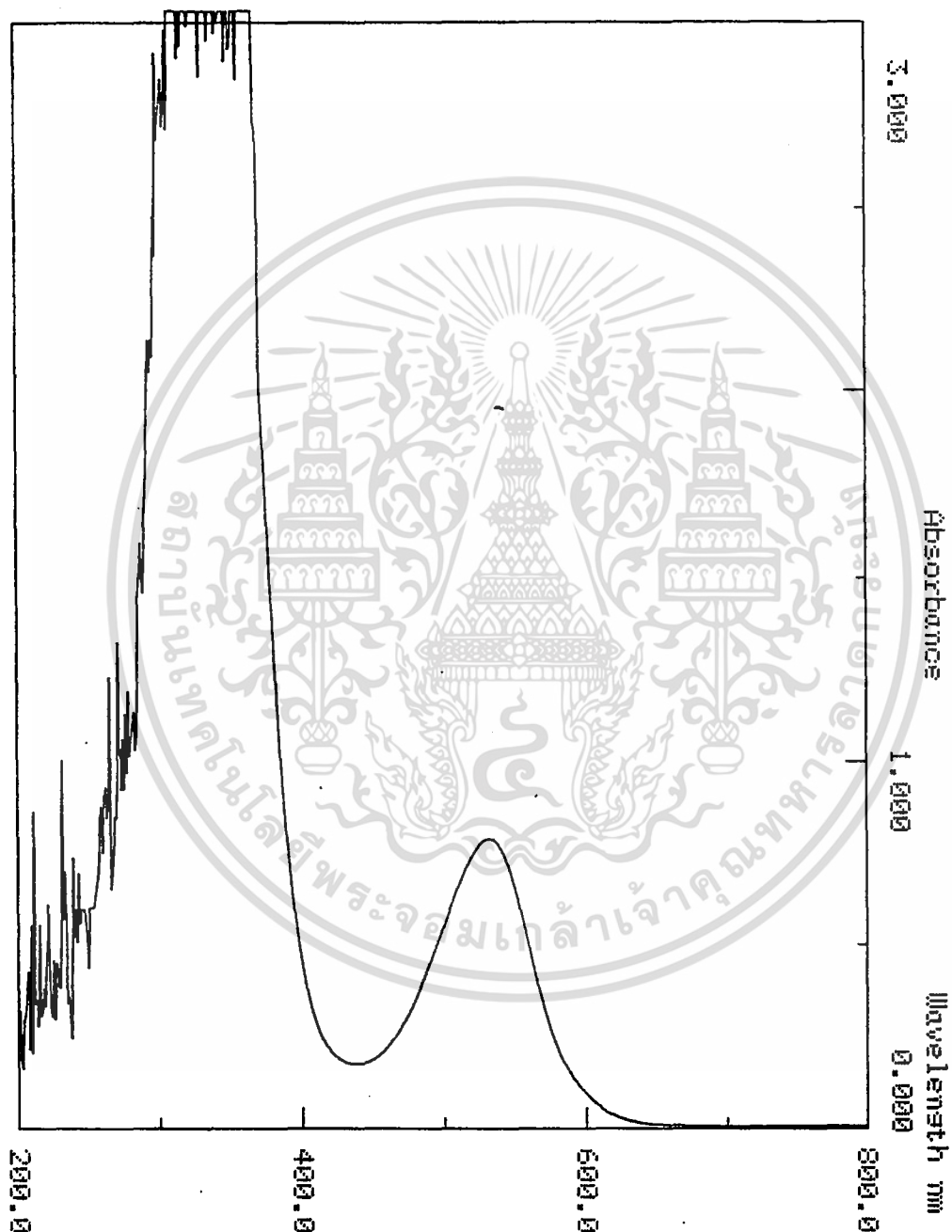


รูปแสดงลักษณะของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นมีสภาพเป็นกลาง โดยชนิดของตัวทำละลายที่ใช้สกัดเรียงจากซ้ายไปขวาของรูป คือ สารละลายเอทานอลเข้มข้น 50% สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 4 M และน้ำกลั่น ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

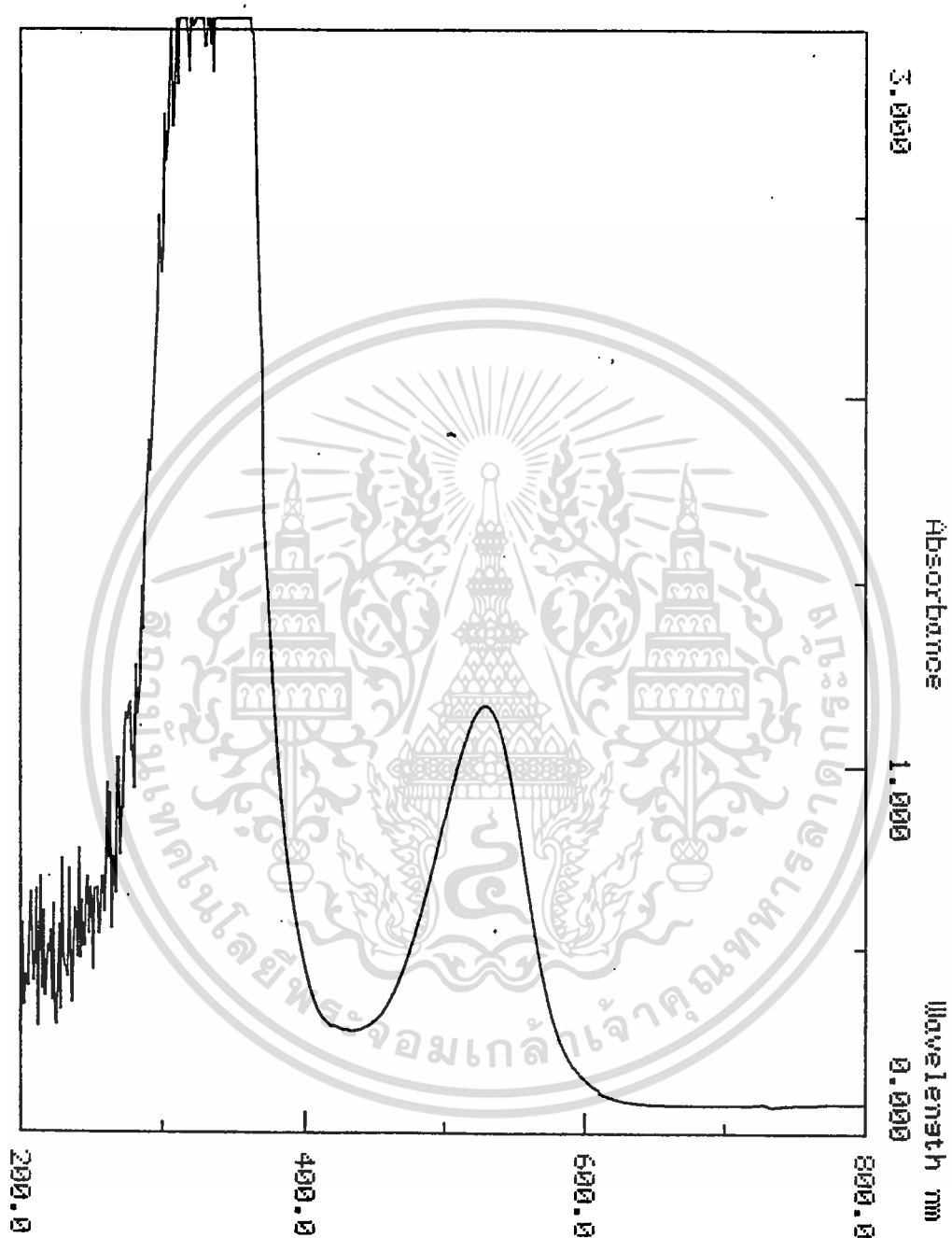
ภาคผนวก ข

รูปแสดงสเปกตรัมของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง โดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นกรด



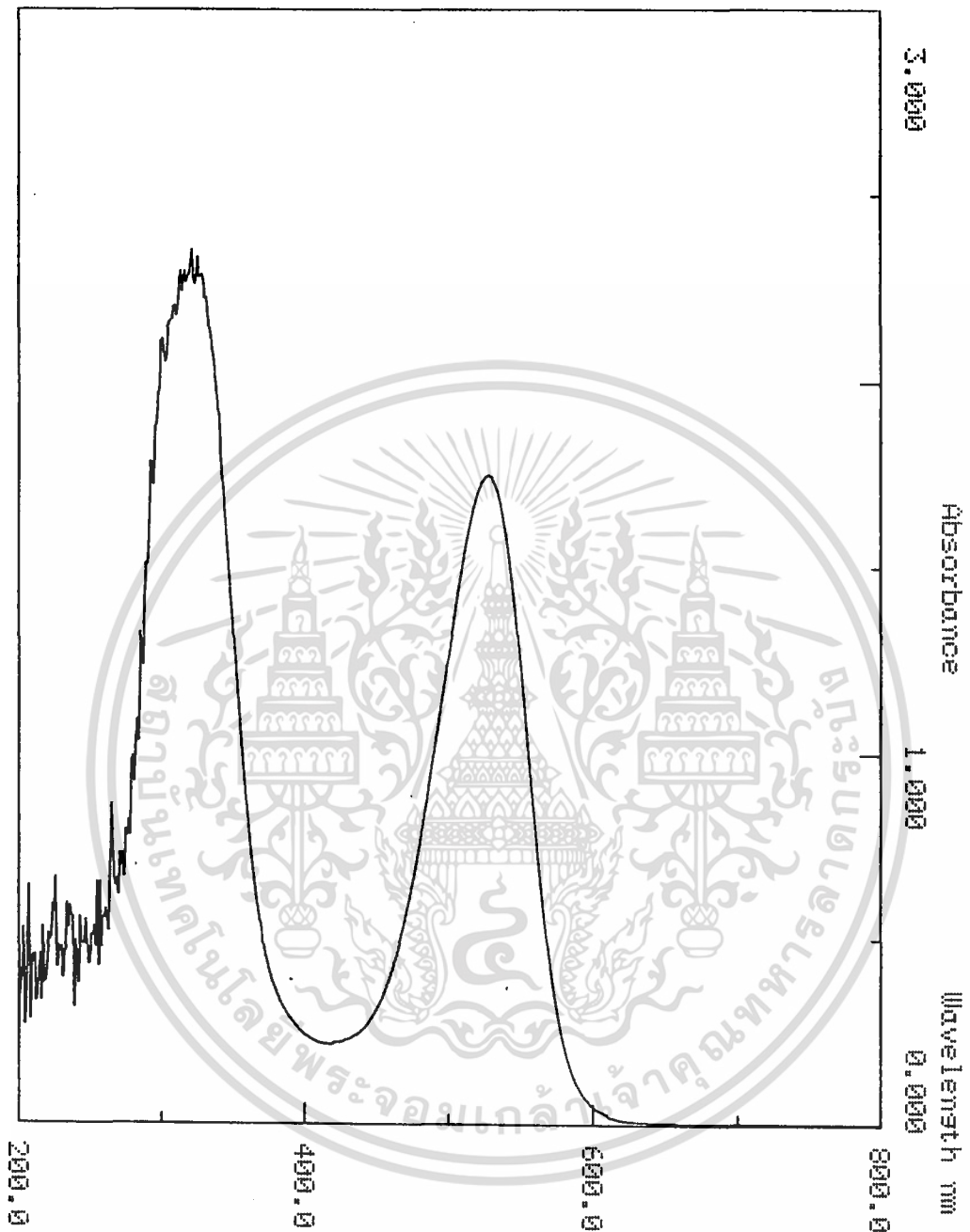
สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง โดยใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกใน
เมทานอลเข้มข้น 1 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



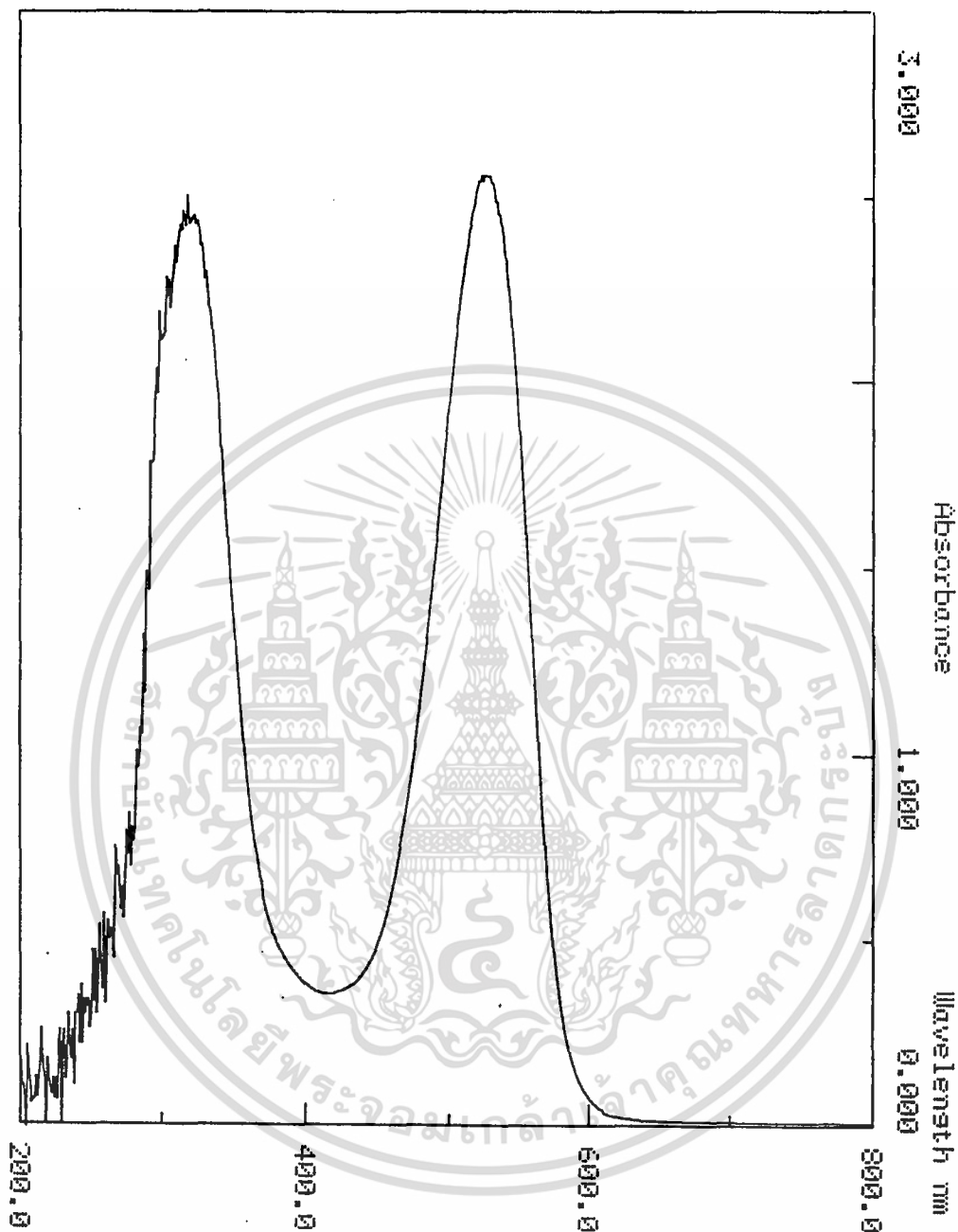
สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้สารละลายกรดคาร์ตาริก
ในเมทานอลเข้มข้น 1 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง โดยใช้สารละลายกรดไทโร-
ฟลูออโรแอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ; สารที่สกัดได้ 0.4 มิลลิลิตรเจือจางด้วยตัวทำละลาย
จนมีปริมาตร 3 มิลลิลิตร (โดยใช้กระบอกตวง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

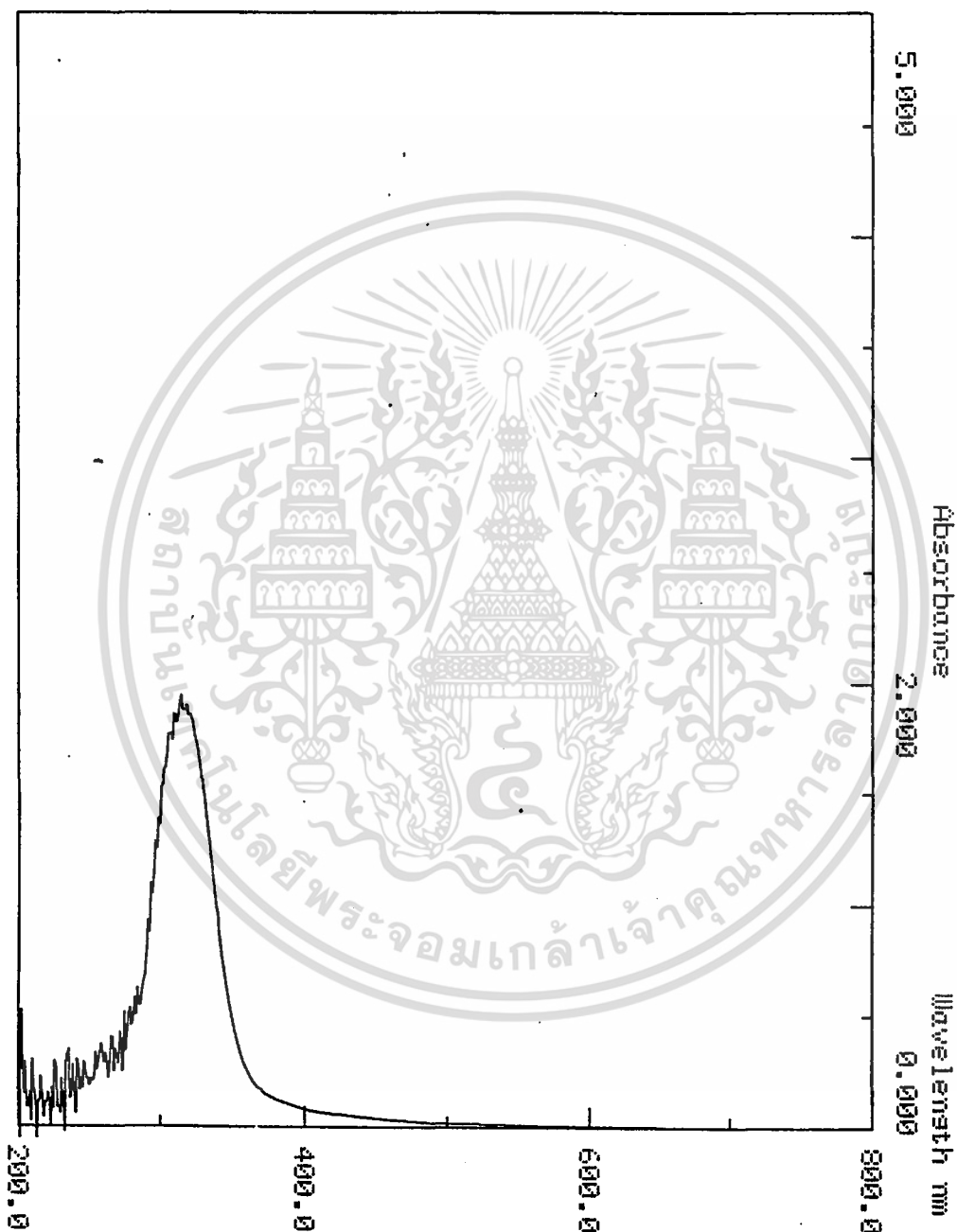


สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง โดยใช้สารละลายกรดไฮโดร-
คลอริกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ; สารที่สกัดได้ 0.4 มิลลิลิตรเจือจางด้วยตัวทำละลายจนมี
ปริมาตร 3 มิลลิลิตร (โดยใช้กระบอกตวง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

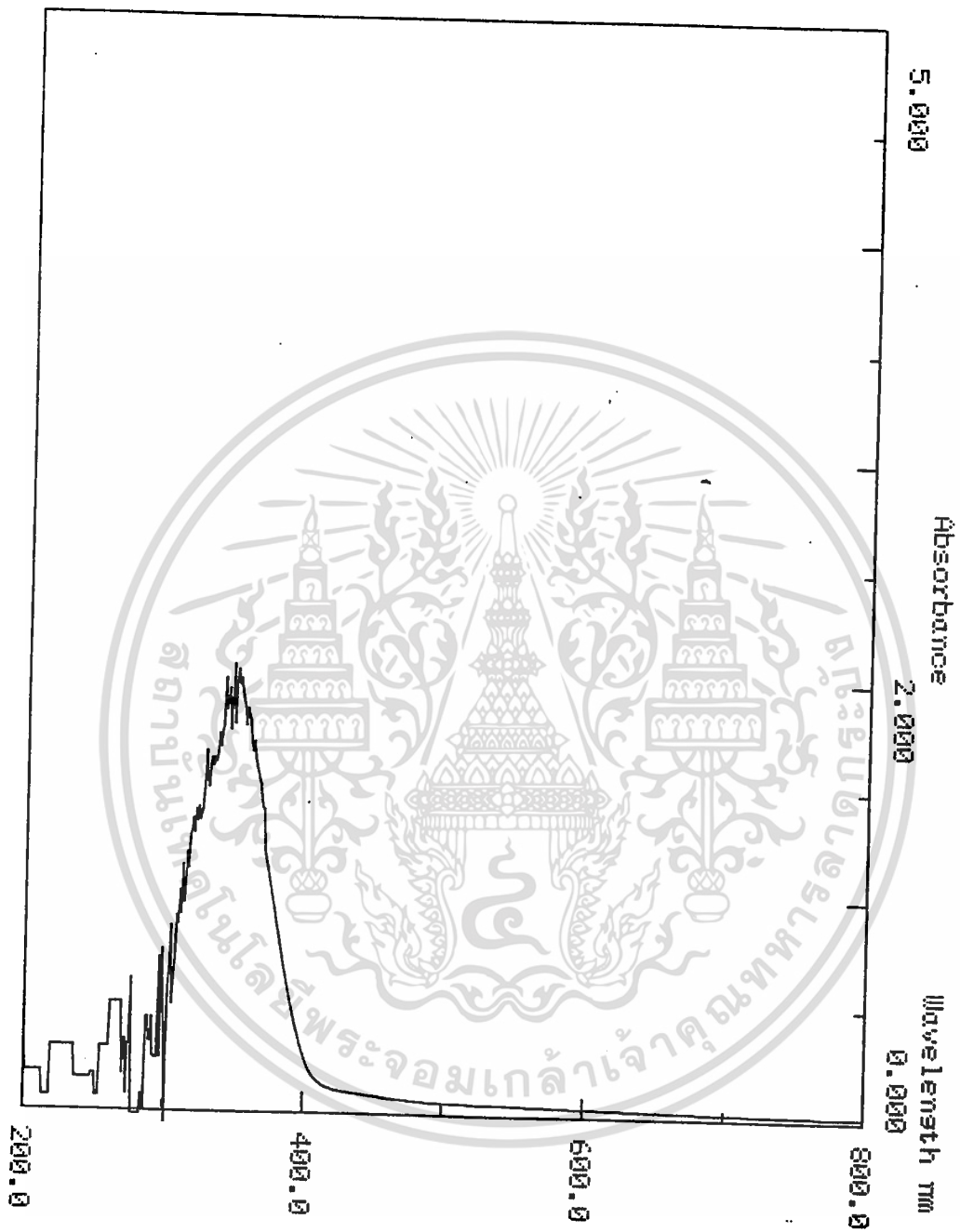
ภาคผนวก ค

รูปแสดงสเปกตรากของสารที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง โดยใช้ตัวทำละลายที่เป็นกรด และทำปฏิกิริยา Alkaline Hydrolysis แล้ว



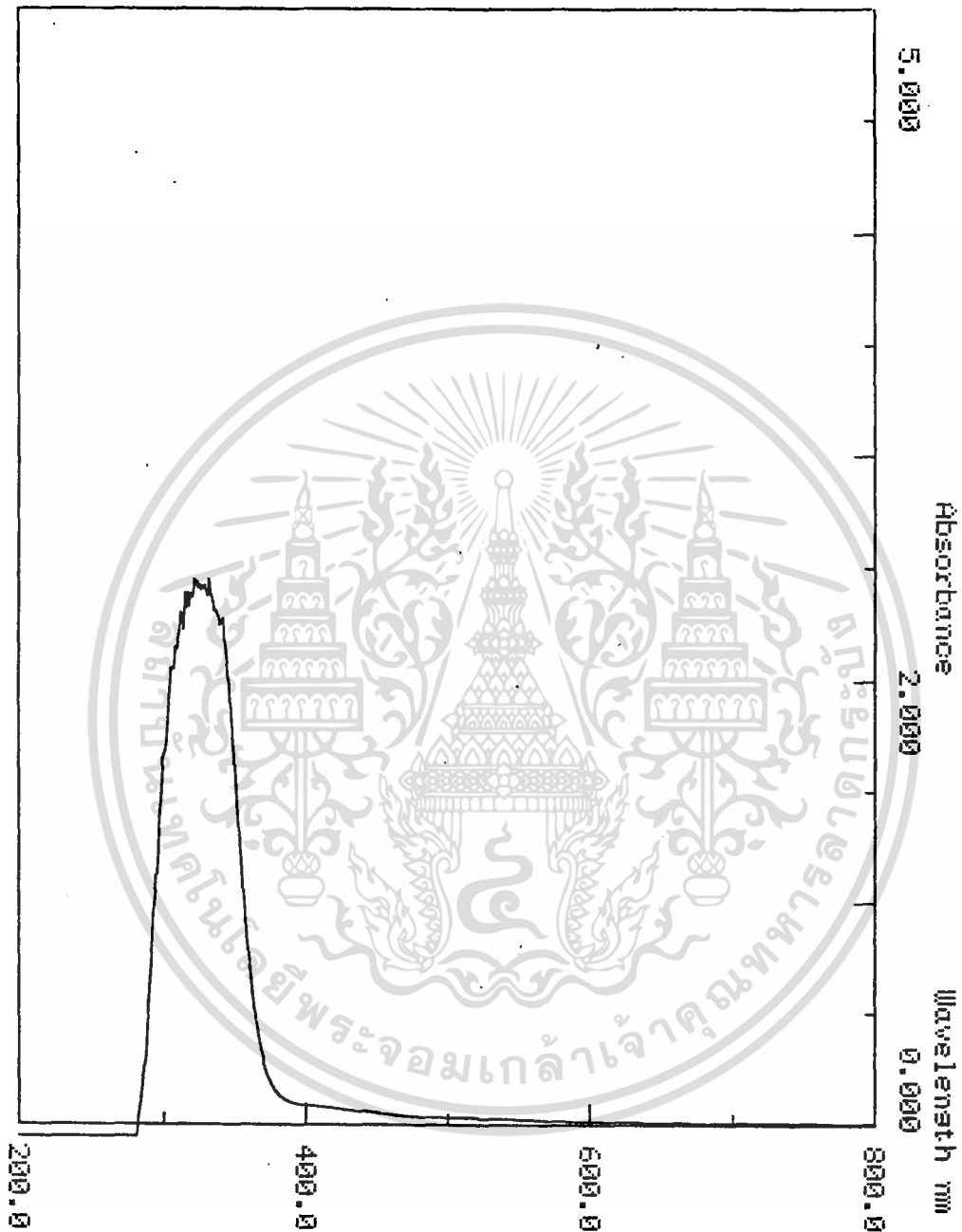
สเปกตรากของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ที่ผ่านการทำปฏิกิริยา Alkaline Hydrolysis แล้ว ; ตัวทำละลาย คือ เอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



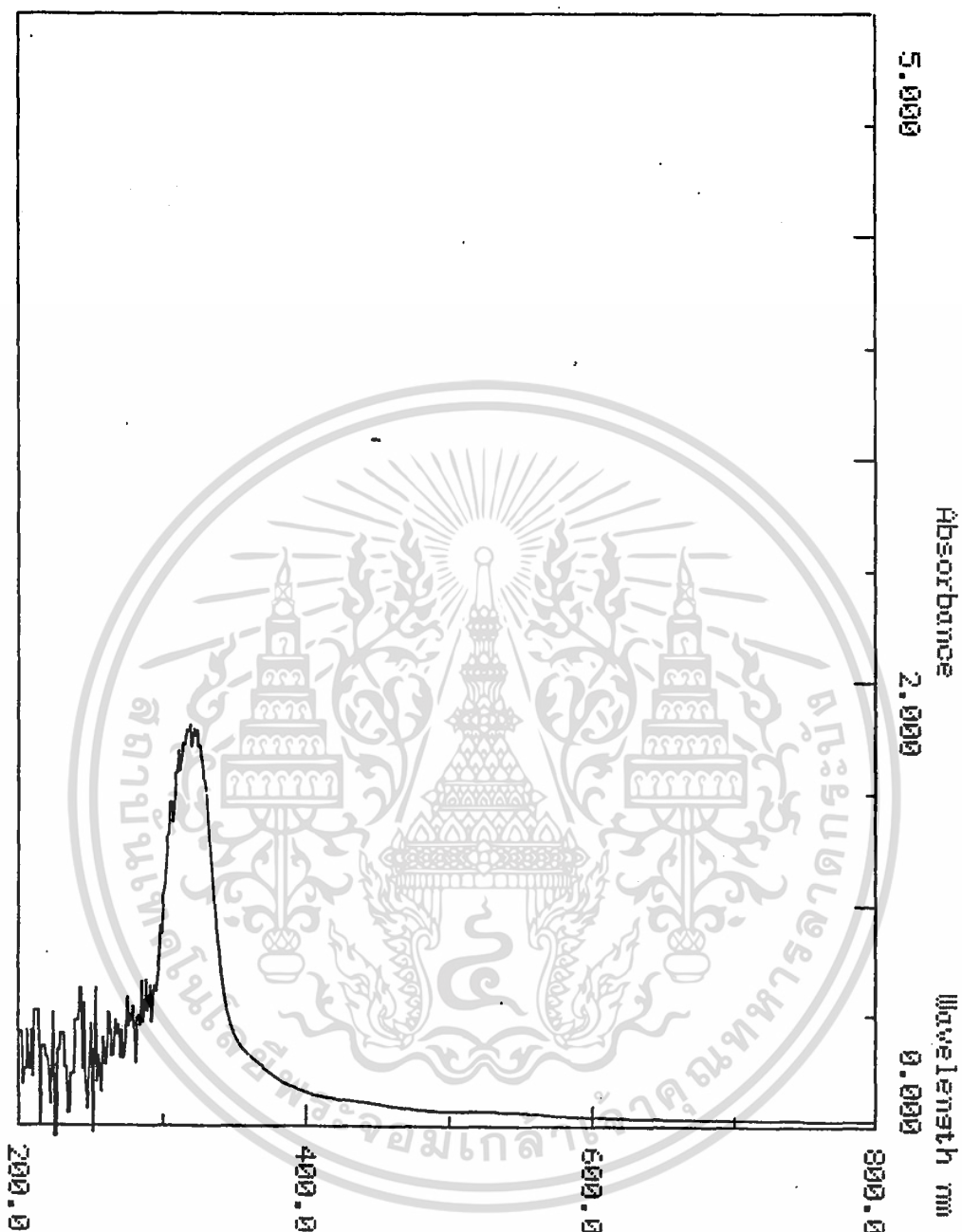
สเปกตรัมของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายกรดซัลฟูริกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ที่ผ่านการทำปฏิกิริยา Alkaline Hydrolysis แล้ว และทำ Bathochromic Shift ด้วย NaOH แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



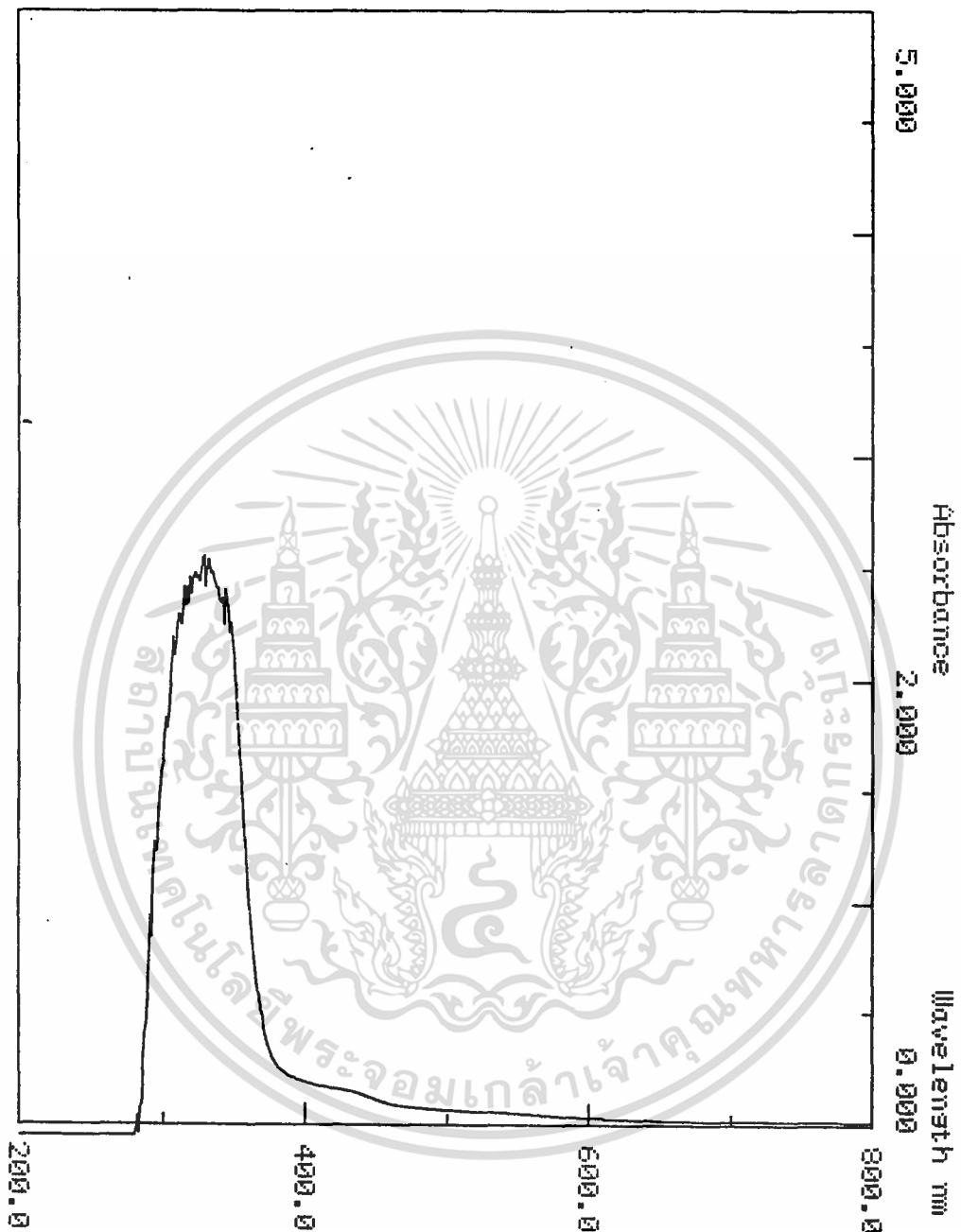
สเปกตรัมของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายกรดทาร์ทาริกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ที่ผ่านการทำ
 ปฏิกริยา Alkaline Hydrolysis แล้ว ; ตัวทำละลาย คือ เอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



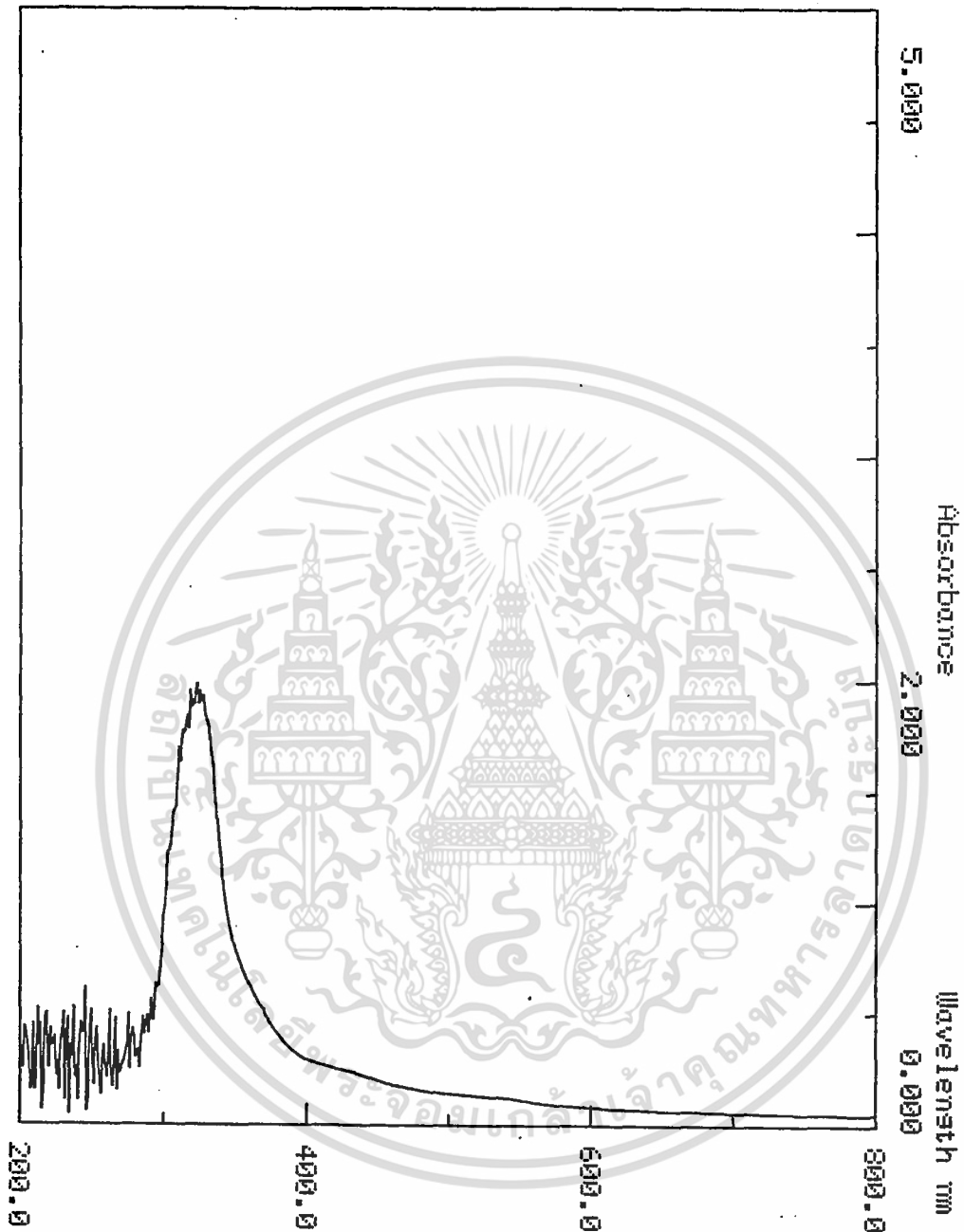
สเปกตร้าของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายกรดทาร์ทาริกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ที่ผ่านการทำปฏิกิริยา Alkaline Hydrolysis แล้ว และทำ Bathochromic Shift ด้วย NaOH แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



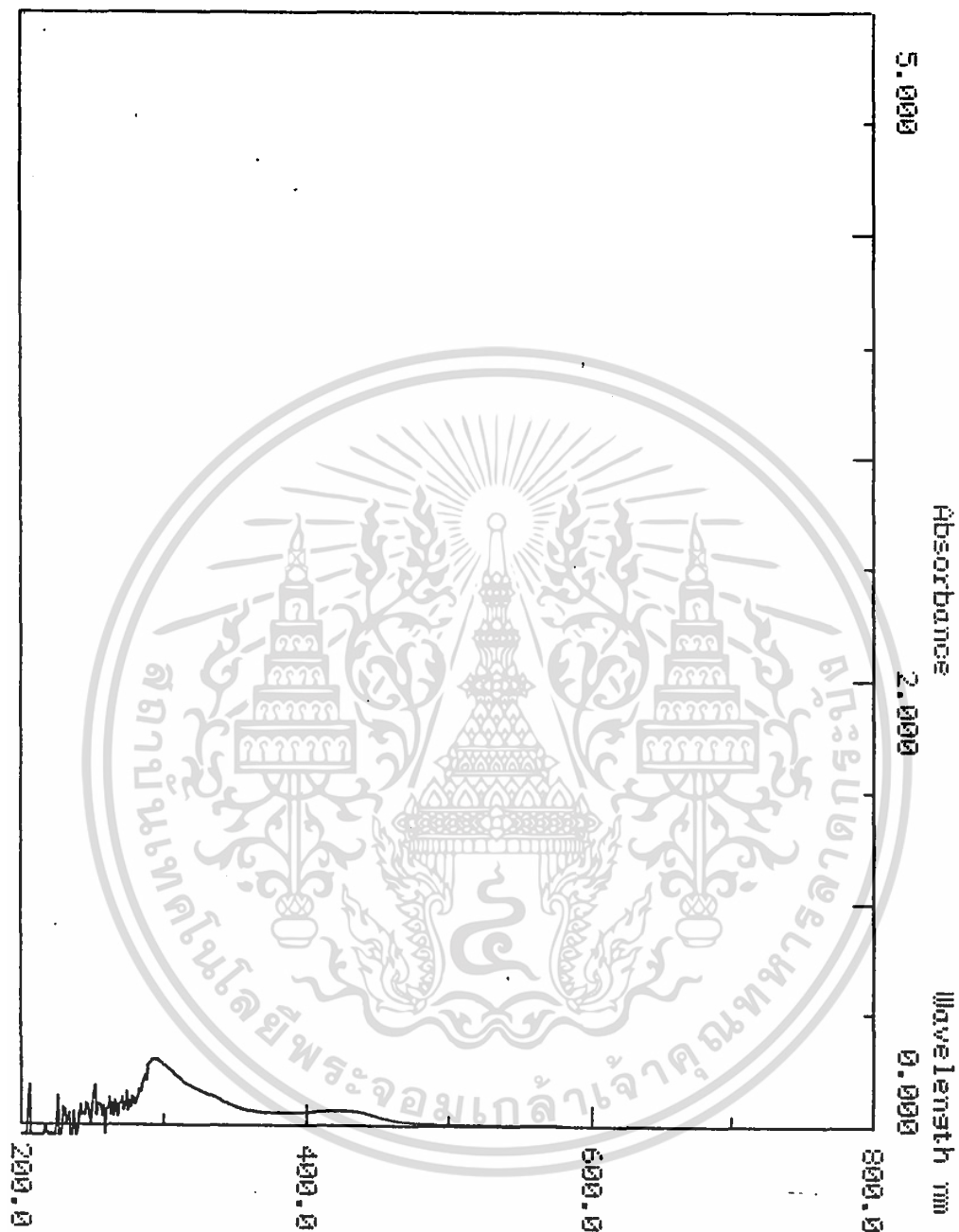
สเปกตรของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายกรดไตรฟลูออโรแอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 %
 ที่ผ่านการทำปฏิกิริยา Alkaline Hydrolysis แล้ว ; ตัวทำละลาย คือ เอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



สเปกตรัมของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายกรดไทรฟลูออโรแอซิดิกในเมทานอลเข้มข้น 1 %
 ที่ผ่านการทำปฏิกิริยา Alkaline Hydrolysis แล้ว และทำ Bathochromic Shift ด้วย NaOH แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



สเปกตรัมของสารที่สกัดได้โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกในเมทานอลเข้มข้น 1 % ที่ผ่าน
 การทำปฏิกิริยา Alkaline Hydrolysis แล้ว ; ตัวทำละลาย คือ เอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



สเปกตรัมของสารตัวอย่างเปล่า (Blank) ที่ใช้ในการวัดสารที่สกัดได้ตอนทำ Bathochromic Shift
ด้วย NaOH ; สารละลาย NaOH เข้มข้น 5% เติม 1 หยดลงใน Ethanol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. วันดี กฤษณพันธ์ , บรรณาธิการ เภสัชวินิจฉัย ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ (เล่ม 1) พิมพ์ครั้งที่ 2. หน้า 89 - 94 , 132 - 140 , Text & Journal Corporation Co. , Ltd. , กรุงเทพฯ , 2536.
2. Anderson , D.W. ; Julian , E.A. ; Kepner , R.E. and Webb , A.D. "Chromatographic Investigation of Anthocyanin Pigments in *Vitis Cinerea*" Phytochem. 9(7). (1970) : 1569 - 1578.
3. Baublis , A. ; Spomer , A. and Berber-Jimenez , M.D. "Anthocyanin Pigments : Comparison of Extract Stability" J. Food Sci. 59(6). (1994) : 1219 - 1221 , 1233.
4. Brouillard , R. and Dubois , J.-E. "Mechanism of the Structural Transformations of Anthocyanins in Acidic Media" J. Am. Chem. Soc. 99(5). (1977) : 1359 - 1364.
5. Brouillard , R. "The *IN VIVO* Expression of Anthocyanin Colour in plants" Phytochem. 22(6). (1983) : 1311 - 1323
6. Dean . J.A. (ed.) Lange's Handbook of Chemistry 13th ed. pp. 5-104 - 5-105 , 11-30 , 11-40 , McGraw-Hill , New York , 1985.
7. Durkee , A.B. and Jones , J.D. "A Mild procedure for the extraction and fractionation of Anthocyanin , Proanthocyanin and other Polyphenols of Apple peel" Phytochem. 8 (5). (1969) : 909 - 911.
8. Engel , C. in Natural Colours ; their stability and application in food (The British Food Manufacturing Industries Research Association , ed.) (part 1) pp. 2 - 29, Leatherhead , [n.p.] , 1979.
9. Fuleki . T. and Francis , F.J. "Quantitative Methods for Anthocyanins 1. Extraction and Determination of Total Anthocyanin in Cranberries" J. Food Sci. 33 (1968) : 72 - 77.
10. Geissman , T.A. "Anthocyanins , Chalcones , Aurones , Flavones and Related Water-soluble Plant pigments" in Modern Methods of Plant Analysis. (Paech , K. and Tracey , M.V. , eds.) (vol.3) pp. 450 - 498 , Julius Springer , Berlin , 1955.
11. Goto , T. "Structure , Stability and Color Variation of Natural Anthocyanins" Progress Chem. Org. Nat. Prod. 52 (1987) : 113 - 158.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. Goto , T. ; Hoshino , T. and Ohba , M. "Stabilization Effect of Neutral Salts on Anthocyanins : Flavylum Salts , Anhydrobases and Genuine Anthocyanins" Agric. Biol. Chem. 40(8) (1976) : 1593 - 1596.
13. Grube , O. ; Dickmann , K. and Gundermann , R. "The pigment of Red Cabbage as an indicator in the range pH 8.5 - 10" Chem. Abs. 37 (1943) : 5671.
14. Harborne , J.B. "Spectral Methods of Characterizing Anthocyanins" Biochem. J. 70 (1958) : 22 - 28.
15. Harborne , J.B. "Chromatographic Identification of Anthocyanin Pigments" Chromatogr. Rev. 1 (1959) : 209 - 224.
16. Harborne , J.B. "Plant Polyphenols - XI The Structure of Acylated Anthocyanins" Phytochem. 3 (1964) : 151 - 160.
17. Hrazdina , G. and Franzese , A.J. "Oxidation Products of Acylated Anthocyanins under Acidic and Neutral Conditions" Phytochem. 13 (1975) : 231 - 234.
18. Hrazdina , G. ; Iredale , H. and Mattick , L.R. "Anthocyanin Composition of *Brassica oleracea* CV. Red Danish" Phytochem. 16 (1977) : 297 - 299.
19. Iacobucci , G.A. and Sweeny , J.G. "The Chemistry of Anthocyanins, Anthocyanidins and related Flavylum Salts" Tetrahedron 39(19) (1983) : 3005 - 3038.
20. Idaka , E. ; Suzuki , K. ; Yamakita , H. ; Ogawa , T. ; Kondo , T. and Goto , T. "Structure of Monoacylated Anthocyanins Isolated from Red Cabbage , *Brassica oleracea*" Chem. Lett. 1 (1987) : 145 - 148.
21. Idaka , E. ; Suzuki , K. ; Yamakita , H. ; Ogawa , T. ; Kondo , T. ; Yamamoto , M. and Goto , T. "Structure of Three Diacylated Anthocyanins Isolated from Red Cabbage , *Brassica oleracea*" Chem. Lett. 6 (1987) : 1213 - 1216.
22. Idaka , H. "Acylated anthocyanins from red cabbage" Chem. Abs. 108 (1988) : 35008j.
23. Itaka , E. "Isolation of Anthocyanins" Chem. Abs. 106 (1987) : 173191y.
24. Jackman , R.L. and Smith , J.L. "Anthocyanins and Betaleins" in Natural Food Colorants. (Hendry , G.A.F. and Houghton , J.D. , eds.) pp. 183 - 217 , 231 - 247, Blackie and Son Ltd. Glassgow , 1991.
25. Jackman , R.L. ; Yada , R.Y. and Tung , M.A. "A Review : Separation and Chemical Properties of Anthocyanins used for their Qualitative and Quantitative Analysis" L. Food. Biochem. 11(4). (1987) : 279 - 308.

26. Jeffery ,G.H. ; Bassett , J. ; Mendham , J. and Denney , R.C. (revs.) Vogel's Quantitative Chemical Analysis. 5th ed. pp. 266 - 267 Longman Scientific & Technical , Avon , Great Britain . 1989.
27. Jurd , L. and Geissman , T.A. "Anthocyanins and Related Compounds. II. Structural Transformations of some Anhydro Bases" J. Org. Chem. 28(9). (1963) : 2394 - 2397.
28. Kurokawa , S. ; Ario , M. and Koga , T. "Red Cabbage as An Acid-base indicator" Chem. Abs. 109 (1988) : 162422k
29. McClelland , R.A. and Gedge S. "Hydration of the Flavylum Ion" J. Am. Chem. Soc. 102(1980) : 5838 - 5848.
30. McClelland , R.A. and McGall , G.H. "Hydration of the Flavylum Ion 2. The 4' - Hydroxyflavylum Ion" J. Org. Chem. 47 (1982) : 3730 - 3736.
31. Main , J.H. ; Clydesdale , F.M. and Francis , F.J. "Spray Drying Anthocyanin Concentrates for use as Food Colorants" J. Food Sci. 43(6). (1978) : 1693 - 1694 , 1697.
32. Mazza , G. and Brouillard , R. "Color Stability and Structural Transformations of Cyanidin 3,5-Dig'ucoside and Four 3-Deoxyanthocyanins in Aqueous Solutions" J. Agric. Food Chem. 35 (1987) : 422 - 426.
33. Mazza , G. and Miniati , E. Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains. pp. 1 - 28 , 283 - 288 , 292 - 295 , CRC press , Inc. ; Boca Raton , Florida , 1993.
34. Metivier , R.P ; Francis , F.J. and Clydesdale , F.M. "Solvent Extraction of Anthocyanins from wine pomace" J. Food Sci. 45(4). (1980) : 1099 - 1100.
35. Moore , A.B. ; Francis F.J. and Clydesdale , F.M. "Changes in Chromatographic Profile of Anthocyanins of Red Onion During Extraction" J. Food Prot. 45(8). (1982) : 738 - 743.
36. Moore , A.B. ; Francis F.J. and Jason , M.E. "Acylated Anthocyanins in Red Onions" J. Food Prot. 45(7). (1982) : 590 - 593.
37. Murai , K. and Wilkins , D. "Natural Red Color Derived from Red Cabbage" Food Technol. 44 (1990) : 131.
38. Odate, Y. "Method of Preparing Vegetable or Fruit Juices" U.S Pat. 4,925,690 1990, 15

39. Philip , T. "An Anthocyanin Recovery System from Grape Wastes" J. Food Sci. 39(4). (1974) : 859.
40. Shewfelt , R.L and Ahmed , E.M. "Anthocyanin extracted from Red Cabbage shows promise as coloring for dry beverage mixes" Food Prod. Dev. 11(4). (1977) : 52 , 57 - 59 , 62.
41. Takeda , K. ; Yanagisawa , M. ; Kifune , T. ; Kinoshita , T. and Timberlake , C.F. " A Blue Pigment Complex in Flowers of *Salvia patens*" Phytochem. 35(5). (1994) : 1167 - 1169.
42. Tanchev , S.S. and Timberlake , C.F. "The Anthocyanins of Red Cabbage (*Brassica oleracea*)" Phytochem. 8(9). (1969) : 1825 - 1827.
43. Teh , L.S. and Francis F.J. "Stability of Anthocyanins from *Zebrina pendula* and *Ipomoea tricolor* in a Model Beverage" J. Food Sci. 53(5). (1988) : 1580 - 1581.
44. Timberlake , C.F. and Bridle , P. "Flavylium Salts , Anthocyanidins and Anthocyanins 1.- Structural transformations in acid solutions" J. Sci. Food Agric. 18(1967) : 473 - 478.
45. Timberlake , C.F. and Bridle , P. " The Anthocyanins " in The Flavonoids (Harborne , J.B. ; Mabry , T.J. and Mabry , H. , eds.) pp. 214 - 266 , Chapman and Hall , London , 1975.
46. Wolf , F.T. "Absorption Spectra of the Anthocyanin pigment of Red Cabbage : a natural wide-range pH indicator" Chem Abs. 52 (1956) : 8832i