



โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ ฟิล์มจากข้าวไรซ์เบอร์รี่สำหรับการตรวจวัดพีเอช
Riceberry flour-based film for pH sensing

ชื่อนิสิต นางสาวเฉลิมพร มหาติลกรัตน์

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2560

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ฟิล์มจากข้าวไรซ์เบอร์รี่สำหรับการตรวจวัดพีเอช

Riceberry flour-based film for pH sensing

โดย

นางสาวเฉลิมพร มหาติลกรัตน์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

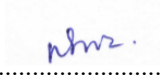
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


ปีการศึกษา 2560

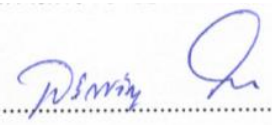
โครงการ ฟิล์มจากข้าวไรซ์เบอร์รี่สำหรับการตรวจวัดพีเอช
โดย นางสาวเฉลิมพร มหาดีกรรัตน์

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ


..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัฒนรา ชีรพิบูลย์เดช)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.อภิชาติ อิมอิม)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เจริญขวัญ ไกรยา)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ดีมาก ดี พอใช้

ชื่อโครงการ ฟิล์มจากข้าวไรซ์เบอร์รี่สำหรับการตรวจวัดพีเอช
ชื่อนิติในโครงการ นางสาวเฉลิมพร มหาดีภรณ์ เลขประจำตัว 5733072723
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.อภิชาติ อิ่มยิ้ม
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อ

ข้าวไรซ์เบอร์รี่เกิดขึ้นจากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวเจ้าหอมนิลและข้าวขาวดอกมะลิ 105 (ข้าวหอมมะลิ) มีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบในเมล็ดข้าว จึงมีแนวโน้มที่จะนำมาสกัดแอนโทไซยานิน และใช้เป็นสารให้สีในการสร้างฟิล์มตรวจวัดพีเอช เนื่องจากแอนโทไซยานินสามารถเปลี่ยนสีเมื่อพีเอชเปลี่ยน ในงานวิจัยนี้ใช้แป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่และแป้งข้าวโพดเพื่อผลิตฟิล์มโดยใช้เทคนิคการเกลี่ยสารละลายให้เป็นฟิล์มบาง (casting) นำฟิล์มสำหรับตรวจวัดพีเอชมาทดสอบการเปลี่ยนสีที่เกิดขึ้นในช่วงพีเอชระหว่าง 1.0-10.0 ซึ่งสังเกตเห็นว่าฟิล์มมีการเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีน้ำตาล ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปีเพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสีของสารแอนโทไซยานินในช่วง pH 1.0-10.0 และหาปริมาณแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธีพีเอชดิฟเฟอเรนเชียล (pH differential method) ซึ่งพบว่ามีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ประมาณ 10.5 ± 0.1 มิลลิกรัมต่อกรัม ในการศึกษาการรวมกันได้ของฟิล์มโดยทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี พบว่าฟิล์มที่เตรียมขึ้นมาจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่และแป้งข้าวโพดสามารถรวมกันได้ และในการศึกษาสมบัติพื้นผิวของฟิล์มทำการวิเคราะห์ด้วยมุมสัมผัสที่เกิดขึ้นระหว่างฟิล์มและหยดน้ำซึ่งพบว่าฟิล์มมีพื้นผิวที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ ดังนั้นฟิล์มจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่เพิ่มแป้งข้าวโพดลงไปมีแนวโน้มที่จะใช้เป็นฟิล์มในการตรวจวัดพีเอชได้

คำสำคัญ: แป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่, ฟิล์มตรวจวัดพีเอช, แอนโทไซยานิน

Project Title Riceberry flour-based film for pH sensing
Student Name Miss chaloemoporn Mahadilokrat Student ID 5733072723
Advisor Name Associate Professor Apichat Imyim, Ph.D.
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2017

Abstract

Riceberry (*Oryza sativa* L.) is originated from a cross-breed between Jao Hom Nin and Khoa Dawk Mali 105 (Jasmine rice) which composed of anthocyanin in grain. For this reason, riceberry could possibly be used as a pH sensor because of the ability of anthocyanin that can change its color at a wide pH range. In this work, riceberry rice flour and corn flour were used to fabricate films by casting. Anthocyanin solution that was extracted from riceberry rice flour and pH sensing film were tested in the pH range of 1.0-10.0 and it exhibited the color changed from red to brown by visual observation. The UV-vis spectra of anthocyanin extracted from riceberry solution was studied, showing the color change at pH 1.0-10.0. Total anthocyanin content determined by pH differential method was 10.5 ± 0.1 mg/g. Fourier transform infrared (FT-IR) spectra showed the great compatibility between riceberry flour and corn flour. The surface of film was hydrophilic, suggesting by contact angle. Therefore, films produced from riceberry flour and corn flour could be used as pH sensing film.

Keywords: Riceberry flour, pH sensing film, anthocyanin

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยและรายงานฉบับนี้ จะไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ หากไม่ได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก รองศาสตราจารย์ ดร.อภิชาติ อิ่มยิ้ม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ซึ่งกรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ ความรู้ และวิธีการต่าง ๆ รวมถึงให้คำปรึกษาตลอดการทำวิจัย และสละเวลาอันมีค่าเพื่อแก้ไขข้อบกพร่องของเนื้อหา ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้ และขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัฒตรา ธีรพิบูลย์เดช และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เจริญขวัญ ไกรยา ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการสอบในครั้งนี้ รวมถึงสมาชิกในหน่วยปฏิบัติการวิจัยการวิเคราะห์เชิงสภาวะแวดล้อม (Environmental Analysis Research Unit) ที่คอยให้คำแนะนำ และช่วยเหลืองานวิจัยสำเร็จลุล่วง

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนโครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ประจำปีการศึกษา 2560



สารบัญ

| | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| บทคัดย่อภาษาไทย | ค |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | ง |
| กิตติกรรมประกาศ | จ |
| สารบัญ | ฉ |
| สารบัญตาราง | ช |
| สารบัญรูป และกราฟ | ฌ |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ | 1 |
| 1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | 2 |
| 1.4 ขอบเขตงานวิจัย | 3 |
| 1.5 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง | 3 |
| 1.5.1 แป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ | 3 |
| 1.5.2 แอนโทไซยานิน | 3 |
| 1.5.3 การเตรียมฟิล์มจากแป้ง | 6 |
| 1.5.4 เซนเซอร์จากแผ่นฟิล์ม | 7 |
| บทที่ 2 การทดลอง | 8 |
| 2.1 เครื่องที่ใช้ในการทดลอง | 8 |
| 2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง | 8 |
| 2.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง | 9 |
| 2.4 การเตรียมสารละลาย | 9 |
| 2.4.1 การเตรียมสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร | 9 |
| 2.4.2 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลต่อลิตร pH 1.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร | 9 |
| 2.4.3 การเตรียมสารละลายโซเดียมแอสิตเตตความเข้มข้น 0.4 โมลต่อลิตร pH 4.5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร | 10 |
| 2.5 วิธีการทดลอง | 10 |
| 2.5.1 การสกัดแอนโทไซยานินจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ | 10 |
| 2.5.2 การเตรียมฟิล์มจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ | 11 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| | ช |
| 2.5.3 การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินด้วยเทคนิค UV – Vis spectroscopy | 11 |
| 2.5.4 การตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสีที่ pH ต่าง ๆ ของสารละลายที่สกัดได้ด้วยเทคนิค UV- Vis spectroscopy | 11 |
| 2.5.5 การทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีที่ pH ต่าง ๆ ของฟิล์มที่เตรียมขึ้นจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ | 11 |
| 2.5.6 การตรวจวิเคราะห์โครงสร้างแอนโทไซยานินด้วยเทคนิค FT-IR spectroscopy | 11 |
| 2.5.7 การวัดมุมสัมผัส (contact angle) ของฟิล์ม | 11 |
| 2.5.8 การวัดความหนาของฟิล์ม | 12 |
| บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง | 13 |
| 3.1 การหาปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่โดยใช้เทคนิค UV-vis spectroscopy | 13 |
| 3.2 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายแอนโทไซยานินโดยเทคนิค UV-vis spectroscopy | 17 |
| 3.3 การเตรียมฟิล์มจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ | 18 |
| 3.4 การทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีของฟิล์มที่ pH ต่าง ๆ | 21 |
| 3.5 การหาเอกลักษณ์เฉพาะของ pH indicator film ด้วยเทคนิค FT-IR spectroscopy | 21 |
| 3.6 การวิเคราะห์มุมสัมผัส (contact angle) ของฟิล์ม | 23 |
| 3.7 การวัดความหนาของฟิล์มด้วยไมโครมิเตอร์ | 25 |
| บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง | 26 |
| 4.1 สรุปผลการทดลอง | 26 |
| 4.2 ข้อเสนอแนะ | 26 |
| เอกสารอ้างอิง | 28 |
| ประวัติผู้วิจัย | 31 |

สารบัญตาราง

| | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ตารางที่ 3.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 516 และ 700 นาโนเมตร ที่ pH 1.0 และ 4.5 | 14 |
| ตารางที่ 3.2 ค่าปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ | 16 |
| ตารางที่ 3.3 ค่ามุมสัมผัส (contact angle) ของฟิล์ม | 23 |
| ตารางที่ 3.4 ค่าการวัดความหนาของฟิล์มด้วยไมโครมิเตอร์จากการสุ่ม 20 ครั้ง | 23 |



สารบัญรูป และกราฟ

| รูป | หน้า |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| รูปที่ 1.1 โครงสร้างทั่วไปของแอนโทไซยานิน | 4 |
| รูปที่ 1.2 โครงสร้างของแอนโทไซยานินที่พบในพืช | 4 |
| รูปที่ 1.3 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานินที่ pH ต่าง ๆ และปฏิกิริยาการสลายตัวที่ $R_1 = H$ หรือ saccharide R_2 และ $R_3 = H$ หรือ methyl | 6 |
| รูปที่ 3.1 สีของสารละลายที่สกัดจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ | 13 |
| รูปที่ 3.2 สีของสารสกัดแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ ที่ถูกละลายด้วย 50% เอทานอล (a) การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายแอนโทไซยานินเมื่อทำการเจือจางด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลต่อลิตร pH 1.0 (b) และสารละลายโซเดียมแอสิตเตตความเข้มข้น 0.4 โมลต่อลิตร pH 4.5 (c) | 14 |
| รูปที่ 3.3 การเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินที่ได้จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ pH ต่าง ๆ | 18 |
| รูปที่ 3.4 สีของฟิล์มที่เตรียมขึ้นจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ปริมาณ 0.5 กรัม (a) และ 0.25 กรัม (b) | 19 |
| รูปที่ 3.5 สีของฟิล์มที่เตรียมขึ้นจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ปริมาณ 0.25 กรัม (a) และ 0.10 กรัม (b) โดยทำการปิดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ และเก็บในที่มืดระหว่างรอให้ฟิล์มแห้ง | 20 |
| รูปที่ 3.6 เปรียบเทียบสีของฟิล์มที่เตรียมขึ้นมาจากแป้งจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ และแป้งข้าวโพดในอัตราส่วนระหว่างแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่และแป้งข้าวโพด 0:1 (a) 1:1 (b) 1:4 (c) | 21 |
| รูปที่ 3.7 การเปลี่ยนสีของฟิล์มที่ pH ต่าง ๆ | 21 |
| รูปที่ 3.8 อินฟราเรดสเปกตรัมของแป้งข้าวโพด (a) แป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ (b) สารสกัดแอนโทไซยานินจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ (c) ฟิล์มแป้งข้าวโพด (d) และฟิล์มแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่มีการเพิ่มแป้งข้าวโพด (e) | 22 |
| รูปที่ 3.9 การวัดมุมสัมผัสระหว่างผิวหยดน้ำกับผิววัสดุ | 23 |
| รูปที่ 3.10 ลักษณะของหยดน้ำบนแผ่นฟิล์ม | 24 |

กราฟ

- กราฟที่ 3.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแอนโทไซยานินที่เจือจาง 10 ด้วย
สารละลายโพแทสเซียมคลไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ pH 1.0 และ
สารละลายโซเดียมอะซิเตดความเข้มข้น 4.0 โมลาร์ pH 4.5 ที่ความยาว
คลื่นต่าง ๆ 15
- กราฟที่ 3.2 สเปกตรัมของการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินที่ได้จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ ที่
pH ต่าง ๆ 18



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อาหารเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับมนุษย์ หากเราได้รับประทานอาหารที่ไม่มีความสะอาดให้โทษแก่ร่างกายได้ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ส่งผลให้อาหารเกิดการเน่าเสีย

จากงานวิจัยของ Ocaño และคณะ [1] และ Qiao และคณะ [2] เสนอการตรวจวัดความสดของอาหาร เช่น เนื้อหมู เนื้อเป็ด โดยดูจากค่า Total volatile base nitrogen (TVB-N) ซึ่งเป็นการตรวจวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย เอมีน ไตรเมทิลเอมีน (trimethylamine, TMA) ไดเมทิลเอมีน (dimethylamine, DMA) และสารประกอบไนโตรเจนอื่น ๆ ที่ระเหยได้ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายตัวของโปรตีน และสารประกอบไนโตรเจนที่เกี่ยวข้องกับการเน่าเสียของอาหาร

จากเหตุผลดังกล่าวจึงได้เสนอโครงการนี้ขึ้นเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านการตรวจสอบความสดของอาหาร โดยดูการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินที่มีผลจากค่า pH ที่เกิดจาก TVB-N จากการสลายตัวของโปรตีนบางชนิดจากการย่อยสลายอาหารของจุลินทรีย์ ซึ่งทำให้เกิดการเน่าเปื่อยและสารพิษเพิ่มขึ้นทีละนิด ส่งผลให้ความสดของอาหารลดลง ซึ่งในงานวิจัยของ Golasz และคณะ [3] และ Chen และ Gu [4] และ Choi และคณะ [5] ได้มีการนำแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากธรรมชาติ คือ องุ่นม่วง กะหล่ำปลีม่วง และมันม่วง ตามลำดับ มาประยุกต์ใช้เป็น pH indicator film เนื่องจากแอนโทไซยานินมีความไวต่อการเปลี่ยนสีเมื่อ pH เปลี่ยน และงานวิจัยของ Haung และคณะ [6] เสนอการตรวจวัดการเน่าเสียของเนื้อหมูด้วย colorimetric gas sensor array โดยใช้สารสีธรรมชาติทั้ง 4 ชนิดคือ ผักขม หัวไชเท้าแดง winter jasmine และข้าวสีนิล ซึ่งพบว่าสีจากข้าวสีนิลที่สกัดออกมามีความไวมากที่สุดเมื่อเทียบกับสารที่สกัดออกมาจากพืชอื่น ๆ เนื่องจากมีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบหลัก จึงเกิดปฏิกิริยาระหว่างหมู่คาร์บอนิล และหมู่ไฮดรอกซิลของโมเลกุลแอนโทไซยานินในข้าวสีนิลที่สกัดออกมา กับ TVB-N ที่เกิดขึ้นระหว่างการเน่าเสีย

ในโครงการนี้เป็นการนำแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่มาประยุกต์ใช้เป็น pH indicator film ทั้งนี้ข้าวไรซ์เบอร์รี่ (*Oryza sativa* L.) เป็นข้าวสีนิลสายพันธุ์ไทยที่ได้รับการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวเจ้าหอมนิลกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 (ข้าวหอมมะลิ) และจากงานวิจัยของ Rattanachaisit และ Kongkiattikajorn [7] พบว่า แอนโทไซยานินที่สามารถพบในข้าวไรซ์เบอร์รี่นั้นประกอบไปด้วย cyanidin (Cd) และ pelargonidin (Pg) ที่เปลี่ยนสีได้เมื่อ pH เปลี่ยนแปลง

1.2 วัตถุประสงค์

ศึกษาการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ pH ต่าง ๆ และเตรียมฟิล์มจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่

1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการนำแอนโทไซยานินที่สกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ มาใช้เป็น pH indicator film ดังนี้

ในปี 2017 Choi และคณะ [5] มีการพัฒนา pH indicator film โดยใช้วุ้น (agar) และแป้งมันฝรั่งมาใช้ในการตรึงแอนโทไซยานินที่สกัดจากมันม่วง (*Ipomoea batatas*) ที่ใช้เป็น pH sensitive dye จากนั้นนำสารละลายที่สกัดได้จากมันม่วงและฟิล์มที่เตรียมขึ้นมา ไปศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีที่ pH ต่างกัน ที่ pH 2.0-10.0 ซึ่งพบว่าสารละลายที่สกัดได้จากมันม่วง และฟิล์มที่เตรียมขึ้นมานั้นมีการเปลี่ยนสีจากสีแดงไปเป็นสีเขียว จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้น และใช้เทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี และเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี เพื่อยืนยันการรวมกันของสารละลายที่สกัดได้จากมันม่วงและฟิล์มที่เตรียมขึ้นมาซึ่งพบว่าแอนโทไซยานินสามารถถูกตรึงในฟิล์มที่เตรียมขึ้นมาจากวุ้นและแป้งมันฝรั่งได้ ต่อมาจึงนำฟิล์มไปวิเคราะห์การเปลี่ยนสีที่ pH 2.0-10.0 และนำไปทดสอบการใช้งานของฟิล์มบนตัวอย่างเนื้อหมูเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้นด้วยเครื่องวัดสี (colorimeter) ซึ่งเปรียบเทียบกับ การเปลี่ยนแปลง pH ของตัวอย่างเนื้อหมูซึ่งพบว่า สีของฟิล์มมีแนวโน้มเปลี่ยนจากสีแดงไปเป็นสีเขียวเมื่อเนื้อหมูเกิดการเน่าเสียเกิดขึ้น

ในปี 2017 Zhai และคณะ [8] นำกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa* L.) มารวมเข้ากับแป้ง และโพลีไวนิลแอลกอฮอล์เพื่อใช้ทำฟิล์มสำหรับตรวจวัดความสดของเนื้อปลา โดยนำกระเจี๊ยบมาสกัดแอนโทไซยานิน จากนั้นนำแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดไปทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปีเพื่อหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (Total anthocyanins content) ด้วยวิธีพีเอชดิฟเฟอเรนเชียล (pH differential method) และวิเคราะห์การเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินที่ pH ระหว่าง 2-12 ซึ่งพบว่า สารละลายแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดจากกระเจี๊ยบแดง ที่ pH ต่ำกว่า 5 เปลี่ยนเป็นสีชมพู ที่ pH ระหว่าง 6-7 สารละลายเปลี่ยนเป็นสีม่วง และที่ pH ระหว่าง 8-9 และ 10-12 สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินและเหลืองตามลำดับ ซึ่งการเปลี่ยนสีที่เกิดขึ้นเมื่อ pH ต่างกันนั้น เกิดจากการเปลี่ยนรูปของโครงสร้างแอนโทไซยานิน และทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีของฟิล์มนั้นยืนยันได้ว่า แอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงถูกตรึงโดยแป้งและโพลีไวนิลแอลกอฮอล์ได้ และฟิล์มที่มีปริมาณของแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดกระเจี๊ยบแดงเพียงเล็กน้อยยังมีความไวต่อแก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจากการเน่าเสียของเนื้อปลาได้ ดังนั้นฟิล์มสามารถตรวจสอบความสดของเนื้อปลาโดยการสังเกตการเปลี่ยนสีของฟิล์มที่เกิดขึ้นด้วยตาได้

ในปี 2017 Luchese และคณะ [9] นำแป้งข้าวโพดและผงบลูเบอร์รี่มาใช้ในการผลิตฟิล์มโดยใช้เทคนิค casting ทั้งนี้ผงบลูเบอร์รี่ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำผลไม้ประกอบด้วยแอนโทไซยานินจำนวนมาก และถูกเพิ่มลงฟิล์มเพื่อดูแนวโน้มในการเป็นตัวตรวจวัดสี (colorimetric indicator) เนื่องจากแอนโทไซยานินสามารถเปลี่ยนสีได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกรดและเบสซึ่งพบว่า ผงบลูเบอร์รี่มีแนวโน้ม

ที่จะใช้เป็น pH indicator สำหรับบรรจุภัณฑ์อาหารอัจฉริยะ (intelligent food packaging) และตรวจวัดความเน่าเสียของอาหารได้

ในปี 2014 Zhang และคณะ [10] นำดอกชงโค (*Bauhinia blakeana* Dunn.) มาสกัดแอนโทไซยานินเพื่อมาใช้เป็นสีย้อม และถูกตรึงด้วยไคโตซานเพื่อมาเตรียมเป็น pH sensing film ซึ่งเมื่อ pH 2.0-9.0 จะมีการเปลี่ยนสีจากสีแดงไปเป็นสีเขียว จากนั้นนำสีย้อมในสารละลาย และฟิล์มไปทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวีวิสเปิลสเปกโตรสโคปี เพื่อศึกษาการเปลี่ยนสีที่เกิดขึ้นพบว่าในช่วง pH 2.0-4.5 มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นประมาณ 528 นาโนเมตร ที่ pH 4.5-5.5 จะไม่ปรากฏพีคการดูดกลืนแสง ต่อมาเมื่อ pH สูงกว่า pH 7 จะพบค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นประมาณ 600 นาโนเมตร ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็นสีเขียว และสำหรับการเปลี่ยนสีของฟิล์มที่ pH ต่าง ๆ พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ปรากฏมีความคล้ายกับของสารละลาย ทั้งนี้ยังมีการนำ pH sensing film ไปทดสอบกับเนื้อหมูและเนื้อปลา ซึ่งสามารถบอกความสดของเนื้อเหล่านี้ได้เนื่องจากฟิล์มมีการเปลี่ยนสีเกิดขึ้น เนื่องจากสามารถสังเกตการเปลี่ยนสีของฟิล์มที่เกิดขึ้น เมื่อ pH ของเนื้อหมูและเนื้อปลาเปลี่ยนไป

1.4 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการพัฒนาฟิล์มสำหรับตรวจวัดพีเอช โดยทำการเตรียมฟิล์มจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ เพื่อที่สามารถใช้ตรวจวัดพีเอชจากการสังเกตเปลี่ยนสีของฟิล์มเมื่อ pH เปลี่ยนแปลงไป

1.5 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

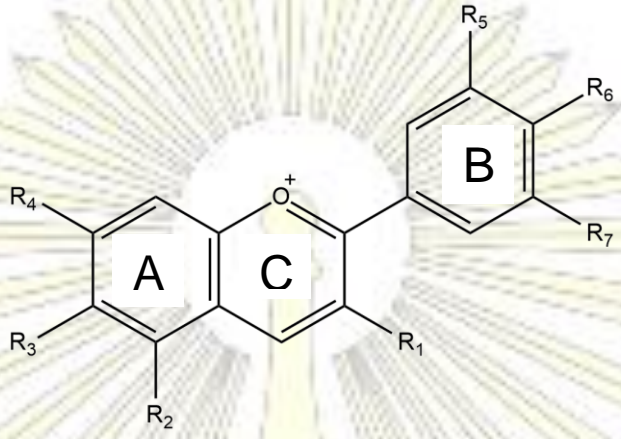
1.5.1 แป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่

ข้าวไรซ์เบอร์รี่ (*Oryza sativa* L.) เป็นข้าวที่เกิดจากการผสมข้ามพันธุ์ระหว่างข้าวเจ้าหอมนิลและข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีลักษณะเป็นข้าวเจ้าสีม่วงเข้ม ซึ่งสีม่วงเข้มที่พบในข้าวไรซ์เบอร์รี่ (Riceberry) เกิดขึ้นตามธรรมชาติมีส่วนประกอบเป็นสารแอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นรงควัตถุหรือสารสีที่สามารถละลายน้ำได้ดี และจัดอยู่ในกลุ่มของฟลาโวนอยด์หรือสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง และแอนโทไซยานินที่สามารถพบในข้าวไรซ์เบอร์รี่นั้นประกอบไปด้วย cyanidin (Cd) และ pelargonidin (Pg) ทั้งนี้ข้าวไรซ์เบอร์รี่มีปริมาณอะไมโลส (amylose content) ประมาณ 15.6% และมีอุณหภูมิแป้งสุก (Gel temperature) น้อยกว่า 70 องศาเซลเซียส [7,11]

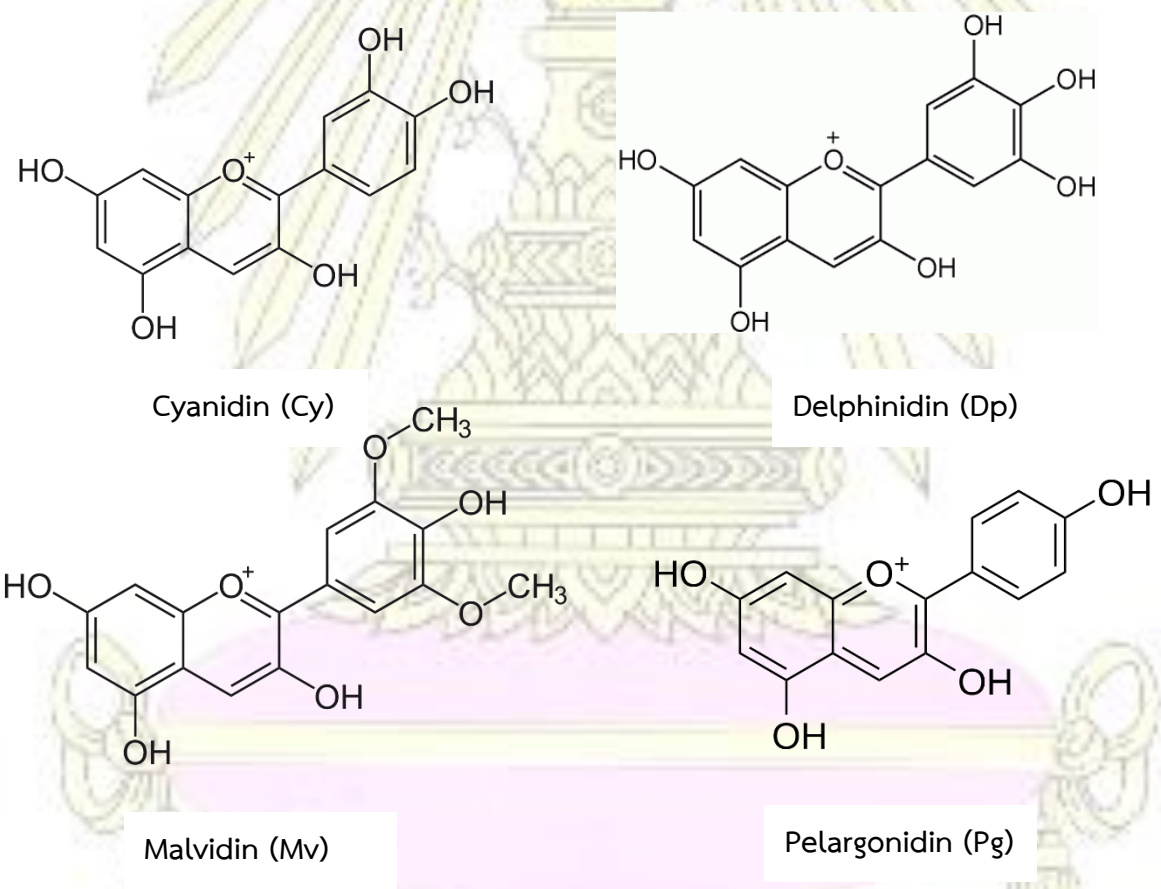
1.5.2 แอนโทไซยานิน

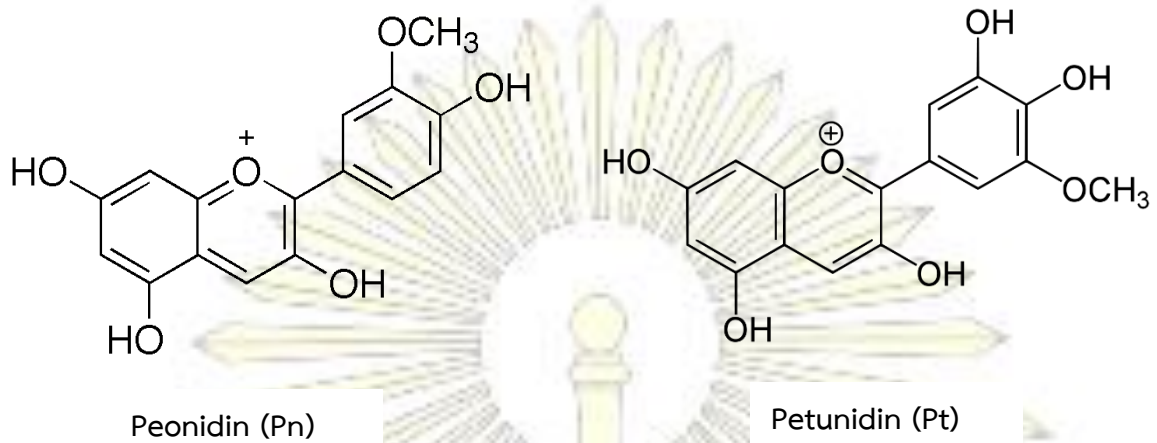
แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) เป็นสารที่สามารถละลายน้ำได้ ซึ่งสามารถสกัดได้จากองุ่น พืชตระกูลเบอร์รี่ กล่ำปลีม่วง แอปเปิ้ล หัวไชเท้าม่วง ดอกทิวลิป กล้วยไม้ หรือพืชชนิดอื่น ๆ ที่มีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบ โดยทั่วไปแอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปไกลโคไซด์ (glycoside) ดังรูปที่ 1.1 ซึ่งประกอบไปด้วยวงแอมโรมาติกวง A ที่เกิดพันธะกับเฮเทอโรไซคลิก (heterocyclic) วง B ที่มีออกซิเจนอยู่ ซึ่งจะเกิด

พันธะ C-C กับวงแอโรมาติกวง C และในที่นี้จะพบแอนโทไซยานิน ทั้งหมด 6 โครงสร้างดังรูปที่ 1.2 คือ Cyanidin (Cy) Delphinidin (Dp) Malvidin (Mv) Pelargonidin (Pg) Peonidin (Pn) และ Petunidin (Pt)



รูปที่ 1.1 โครงสร้างทั่วไปของแอนโทไซยานิน

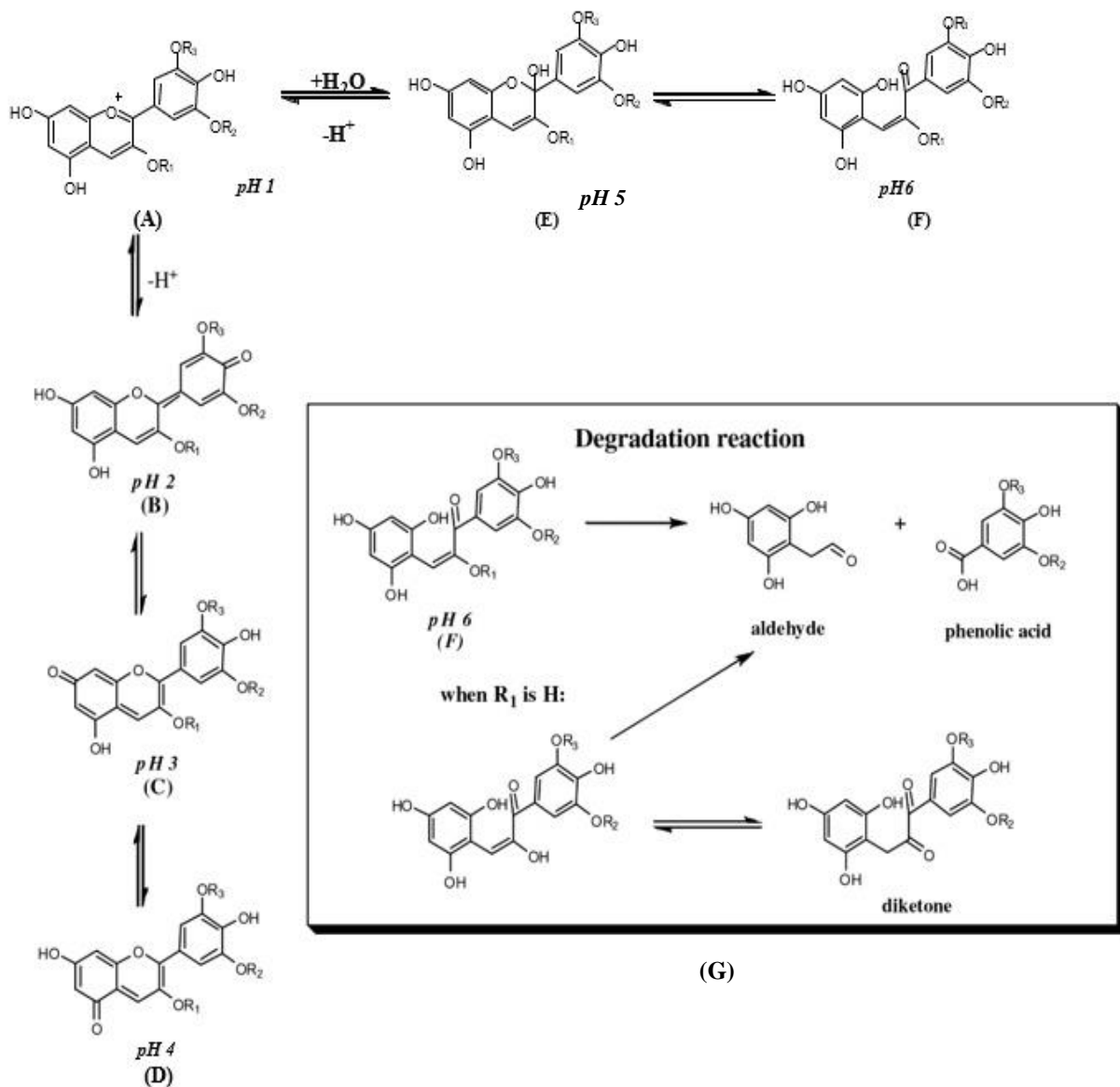




รูปที่ 1.2 โครงสร้างของแอนโทไซยานินที่พบในพืช

ทั้งนี้แอนโทไซยานินมีความเสถียรที่ต่ำทำให้มีความไวต่อการเสื่อมสลาย และปัจจัยที่ส่งผลต่อการสลายตัว เช่น pH อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บ โครงสร้างทางเคมี ความเข้มข้น แสง โปรตีน และไอออนโลหะ

เนื่องจากแอนโทไซยานินสามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสีได้ในช่วง pH กว้าง ๆ ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเกิดขึ้นคือ ที่ pH 1 แอนโทไซยานินอยู่ในรูป flavylum cation (รูปที่ 1.3 A) ซึ่งมีเป็นรูปที่เด่นในสภาวะนี้ จึงสามารถสังเกตเห็นเป็นสีม่วงและสีแดง ที่ pH ระหว่าง 2 และ 4 จะอยู่ในรูปของ quinoidal base (รูปที่ 1.3 B-D) และที่ pH ระหว่าง 5 และ 6 แอนโทไซยานินจะไม่มีสี เนื่องจากแอนโทไซยานินในสภาวะนี้จะอยู่ในรูป 2 รูป คือ carbinol pseudobase (รูปที่ 1.3 E) และ chalcone (รูปที่ 1.3 F) และเมื่อ pH มากกว่า 7 แอนโทไซยานินจะเกิดปฏิกิริยาสลายตัว (degradation reaction) เกิดขึ้นซึ่งขึ้นอยู่กับหมู่แทนที่ (รูปที่ 1.3 G) ทั้งนี้ในช่วง pH ระหว่าง 4 ถึง 6 นั้น โครงสร้างของแอนโทไซยานินมี 4 รูปแบบอยู่ร่วมกัน คือ flavylum cation anhydrous, quinoidal base, colourless carbinol base และ pale yellow chalcone และสมดุลระหว่าง quinoidal base และ carbinol จะเกิดผ่าน flavylum cation (รูปที่ 1.3 D A และ E) [12]



รูปที่ 1.3 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานินที่ pH ต่าง ๆ และปฏิกิริยาการสลายตัวที่ $R_1 = H$ หรือ saccharide R_2 และ $R_3 = H$ หรือ methyl [12]

1.5.3 การเตรียมฟิล์มจากแป้ง

แป้ง เป็นโพลิเมอร์ประเภทโพลีแซคคาไรด์ธรรมชาติที่พบในพืช ประกอบไปด้วยอะไมโลส (amylose) และอะไมโลแพคติน (amylopectin) ในรูปของแกรนูล (granules) และนิยมนำมาเตรียมเป็นฟิล์มเนื่องจากมีสมบัติที่ดีในการเป็นตัวพาออกซิเจนที่ดี ไม่เป็นพิษ สามารถย่อยสลายตามธรรมชาติได้ และมีราคาถูก ซึ่งในการเตรียมฟิล์มจากแป้งนั้นจะใช้เทคนิค casting และเติม plasticizer เช่น กลีเซอรอล หรือซorbitol ลงไปเพื่อให้ฟิล์มเป็นแผ่น และมีความยืดหยุ่น [13]

1.5.4 เซนเซอร์จากแผ่นฟิล์ม

ในด้านของบรรจุภัณฑ์อาหารอัจฉริยะ (intelligent food packaging) นิยมใช้ pH เซนเซอร์ในรูปแบบฟิล์มในการตรวจวัดความสดของอาหารจากการเปลี่ยนแปลง pH ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเน่าเสียของอาหาร เนื่องจาก pH sensing film [14] มีขนาดเล็ก ปลอดภัย มีความไว (sensitivity) ราคาถูก จึงถูกนิยมนำมาใช้ ซึ่ง pH sensing film ประกอบไปด้วย pH sensitive dye และส่วนที่เป็นของแข็งยึดเกาะ (solid support) ที่ใช้ในการตรึง pH sensitive dye [10] ในส่วนของ pH sensitive dye นิยมใช้สีย้อมจากธรรมชาติ เนื่องจาก ไม่เป็นพิษ เตรียมง่าย และไม่เป็นมลภาวะ โดยสีย้อมจากธรรมชาติที่นิยมนำมาใช้คือ แอนโทไซยานิน เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงสีในช่วง pH ที่กว้าง ต่อมาในส่วนของการของแข็งยึดเกาะสำหรับใช้ตรึง pH sensitive dye มีการศึกษาในการนำ polymer ที่สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติมาใช้ในการตรึง pH sensitive dye เช่น ไคโตซาน (chitosan) แพคติน (pectin) และโพลีเมอร์อื่น [15,16]



บทที่ 2

การทดลอง

2.1 เครื่องที่ใช้ในการทดลอง

1. UV-Vis spectrophotometer, HP8453, AGILENT
2. FT-IR spectrophotometer, NICOLET 6700, Thermo SCIENTIFIC
3. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง, SI-234, DEHVER INSTRUMENT
4. เครื่องชั่ง 5 ตำแหน่ง, METTLER TOLEDO
5. เครื่องกวนให้ความร้อน, IKA, C-MAG HS7
6. เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า, HS-115, HL INSTRUMENT
7. เครื่องเซนทริฟิวจ์, UNIVERSAL 320R, Hettich ZENTRIFUGEN
8. มาตรฐานพีเอช, LE409, METTLER TOLEDO
9. เครื่องมือวัดมุมสัมผัส, Standard Goniometer Model no. 200-F1
10. ไมโครมิเตอร์

2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. ไมโครปิเปต
2. ปีกเกอร์
3. แท่งแก้ว
4. หลอดทดลอง
5. ขวดวัดปริมาตร
6. กระจกนาฬิกา
7. กระจกตวง
8. ขวดใส่น้ำปราศจากไอออน
9. ซ้อนตักสาร
10. พาสเจอร์ปิเปต
11. แท่งกวนแม่เหล็ก
12. คิวเวต
13. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

14. หลอดหยดสาร
15. อะลูมิเนียมฟอยล์

2.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. แป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ (riceberry rice flour)
2. แป้งข้าวโพด (corn flour)
3. กรดฟอร์มิก (Formic Acid; HCOOH)
4. โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium Chloride; KCl), AR, ANALYTICAL UNIVAR REAGENT
5. โซเดียมแอสซิเตต (Sodium Acetate; CH₃COONa), AR, CARLO ERBA REAGENT
6. กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 37% (Hydrochloric Acid; HCl), ISO, AR, Reagent grade, MERCK
7. น้ำปราศจากไอออน (DI water)
8. เอทานอล (Ethanol; C₂H₅OH), ISO, AR, Reagent grade, MERCK
9. กลีเซอรอล (glycerol), AR, Q. Rec
10. สารละลายบัฟเฟอร์ (Buffer solution) pH 1.0-10.0, traceable to SRM from NIST and PTB, MERCK

2.4 การเตรียมสารละลาย

2.4.1 การเตรียมสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยนำกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 37 % มา 0.38 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.4.2 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลต่อลิตร pH 1.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลต่อลิตร pH 1.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.186 กรัม เติมน้ำปราศจากไอออน 98 มิลลิลิตร จากนั้นปรับสารละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 37% (ประมาณ 0.63 มิลลิลิตร) จน pH เป็น 1 และปรับปริมาตรจนเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.4.3 การเตรียมสารละลายโซเดียมแอสซิเตตความเข้มข้น 0.4 โมลต่อลิตร pH 4.5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายโซเดียมแอสซิเตตความเข้มข้น 0.4 โมลต่อลิตร pH 4.5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยชั่งโซเดียมแอสซิเตต 5.443 กรัม เติมน้ำปราศจาก 96 มิลลิลิตร จากนั้นปรับสารละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (ประมาณ 2 มิลลิลิตร) จน pH เป็น 4.5 และปรับปริมาตรจนเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.5 วิธีการทดลอง

2.5.1 การสกัดแอนโทไซยานินจากข้าวไรซ์เบอร์รี่

เตรียมสารละลายเอทานอล 80% ในอัตราส่วน 80:20 ระหว่างเอทานอลและน้ำปราศจากไอออน ละลายแป้งจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยสารละลายเอทานอล 80% ในอัตราส่วน 1:10 ระหว่างแป้งจากข้าวไรซ์เบอร์รี่และตัวทำละลาย (80% เอทานอล) ปรับด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร จนสารละลายมี pH ประมาณ 2.2 และนำสารละลายไปคนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าเป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 60°C จากนั้นนำไปเซนทริฟิวจ์ ที่ 5,000 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ดูดส่วนสารละลายออกมา และนำสารละลายที่ดูดออกมาตั้งทิ้งในที่มืดโดยนำอะลูมิเนียมฟอยล์ปิดไว้ และรอจนสารละลายแห้งเป็นสารสกัด (crude)

2.5.2 การเตรียมฟิล์มจากข้าวไรซ์เบอร์รี่

ทำการร่อนแป้งเพื่อแยกแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่มีขนาดใหญ่ออก และทำการเตรียมแป้งทั้งหมด 3 ระบบ ดังนี้

ระบบที่ 1 ชั่งแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่มาในปริมาณ 0.5 กรัม และ 0.25 กรัม ละลายด้วยกรดฟอร์มิก 1.8 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้คนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าจนสารละลายข้นเหนียวและหนืด เติมน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงไป คนต่ออีก 5 นาที หยดกลีเซอรอลจำนวน 1 หยด คนต่อจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน และเกลี่ยสารละลายลงในภาชนะขนาด 3.5×3 เซนติเมตร ให้เป็นฟิล์มบาง (Casting technique) ทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 7 วัน

ระบบที่ 2 ชั่งแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่มาในปริมาณ 0.25 กรัม และ 0.10 กรัม และการเตรียมฟิล์มเช่นเดียวกับระบบที่ 1 แต่ในระหว่างรอฟิล์มแห้งทำการปิดภาชนะด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ และนำไปเก็บในที่มืด

ระบบที่ 3 ชั่งแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่และแป้งข้าวโพด ในอัตราส่วนระหว่างแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ และแป้งข้าวโพด ดังนี้ 0:1, 1:1, 1:4 โดยให้มีปริมาณรวมเป็น 1.0 กรัม ละลายด้วยกรดฟอร์มิก 3.6 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปคนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าจนสารละลายข้นเหนียวและหนืด เติมน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 6 มิลลิลิตร ลงไป คนต่ออีก 5 นาที หยด กลีเซอรอลจำนวน 2 หยด คนต่อจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน และนำสารละลายมาปริมาตร 3.5 มิลลิลิตร เกลี่ยสารละลายลงในภาชนะขนาด 3.5×3 เซนติเมตร ให้

เป็นฟิล์มบาง (Casting technique) จากนั้นปิดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ และนำไปเก็บในที่มืด และรอกจนกว่าฟิล์มแห้งเป็นเวลา 7 วัน

2.5.3 การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินด้วยเทคนิค UV – Vis spectroscopy

นำสารสกัด (crude) (บันทึกปริมาณที่ซั่งมา) ละลายด้วย 50% เอทานอลในอัตราส่วน 50:50 ระหว่างเอทานอลและน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 10 mL นำไป sonicate เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำสารละลายมาเจือจางด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลต่อลิตร pH 1.0 และสารละลายโซเดียมแอซิเตตความเข้มข้น 0.4 โมลต่อลิตร pH 4.5 ที่ dilution factor เป็น 10 แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร

2.5.4 การตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสีที่ pH ต่าง ๆ ของสารละลายที่สกัดได้ด้วยเทคนิค UV-Vis spectroscopy

เตรียมสารละลายที่สกัดได้ โดยนำสารสกัด (crude) มาละลายด้วย 50% เอทานอล ในอัตราส่วน 50:50 ระหว่างเอทานอลและน้ำปราศจากไอออน นำสารละลายไปทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีที่ค่า pH ในช่วง 2.0-10.0 และนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วย UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร

2.5.5 การทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีที่ pH ต่าง ๆ ของฟิล์มที่เตรียมขึ้นจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่

นำแผ่นฟิล์มที่เตรียมขึ้นมาทดสอบในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.0-10.0 โดยแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำฟิล์มที่แช่ในสารละลายบัฟเฟอร์ออก บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้น

2.5.6 การตรวจวิเคราะห์โครงสร้างแอนโทไซยานินด้วยเทคนิค FT-IR spectroscopy

นำแป้งข้าวโพด แป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ แอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดข้าวไรซ์เบอร์รี่ (crude) ฟิล์มจากแป้งข้าวโพด และฟิล์มจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่มีการเติมแป้งข้าวโพด ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR spectrophotometer

2.5.7 การวัดมุมสัมผัส (contact angle) ของฟิล์ม

นำแผ่นฟิล์มวัดมุมสัมผัส (contact angle) ด้วยเครื่องวัดมุมสัมผัส Standard Goniometer Model no. 200-F1

2.5.8 การวัดความหนาของฟิล์ม

วัดความหนาของฟิล์มจากแ่งข่าวไรซ์เบอร์รี่ที่มีการเพิ่มแ่งข่าวโพต ด้วยไมโครมิเตอร์โดยทำการ
สุ่มวัดประมาณ 20 ครั้ง



บทที่ 3

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การหาปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่โดยใช้เทคนิค UV-vis spectroscopy

ในการสกัดแอนโทไซยานินจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ ได้ดัดแปลงมาจากวิธีของ Thao และคณะ [17] โดยในการสกัดแอนโทไซยานินจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่สกัดด้วย 80% เอทานอล ในอัตราส่วนระหว่างเอทานอลและน้ำเป็น 80:20 และอัตราส่วนในการสกัดระหว่างแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่และตัวทำละลายเป็น 1:10 โดยในงานวิจัยนี้ทำการชั่งแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่มา 8.0627 กรัม มาละลายใน 80% เอทานอล ปริมาตร 80 มิลลิลิตร และนำมาปรับจนสารละลายมี pH เป็น 2.2 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร นำสารละลายที่สกัดจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่มาคนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าเป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเซนทริฟิวจ์ 5,000 rpm ที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และดูดส่วนสารละลายออกซึ่งจะได้สารละลายสีแดงดังรูปที่ 3.1 แล้วนำไปตั้งทิ้งในที่มืด และทำการปิดภาชนะด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ รोजนแห้งเป็นสารสกัด (crude)



รูปที่ 3.1 สีของสารละลายที่สกัดจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่

ต่อมาในการหาปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธีพีเอชดีฟเฟอเรนเชียล โดยใช้เทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี จะทำการเตรียมสารละลายแอนโทไซยานินจากสารสกัด (crude) จากข้าวไรซ์เบอร์รี่ โดยชั่งสารสกัดมา 30.08 มิลลิกรัม ละลายด้วย 50% เอทานอลปริมาตร 10 มิลลิลิตร และนำไป sonicate เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าสารสกัดละลายใน 50% เอทานอลหมดแล้ว ดังรูปที่ 3.2 a ซึ่งสีของสารละลายจะมีสีแดง และทำการเตรียมสารละลาย 2 สภาวะเพื่อใช้ในการหาปริมาณแอนโทไซยานินในแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ โดยในสภาวะแรกนำสารละลายแอนโทไซยานินมาเจือจาง 10 เท่าด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลต่อลิตร ที่ pH 1.0 และในสภาวะที่สอง นำสารละลายแอนโทไซยานินมาเจือจาง 10 เท่าด้วยสารละลายโซเดียมแอสซิเตตความเข้มข้น 0.4 โมลต่อลิตร ที่ pH 4.5 จากนั้นนำสารละลายทั้งสองสภาวะมา

กรองด้วยกระดาษกรองก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี ซึ่งจะได้สารละลายดังรูปที่ 3.2 b คือสารละลายที่ถูกเจือจางด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลต่อลิตร ที่ pH 1.0 ซึ่งสังเกตเห็นว่า สีของสารละลายที่สภาวะนี้เป็นสีแดงอมชมพู และดังรูปที่ 3.2 c คือสารละลายที่ถูกเจือจางด้วยสารละลายโซเดียมแอสซิเตตความเข้มข้น 0.4 โมลต่อลิตร ที่ pH 4.5 สารละลายจะมีชมพูอ่อน ซึ่งอ่อนกว่ามากเมื่อเทียบกับสารละลายที่เจือจางด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ที่ pH 1.0



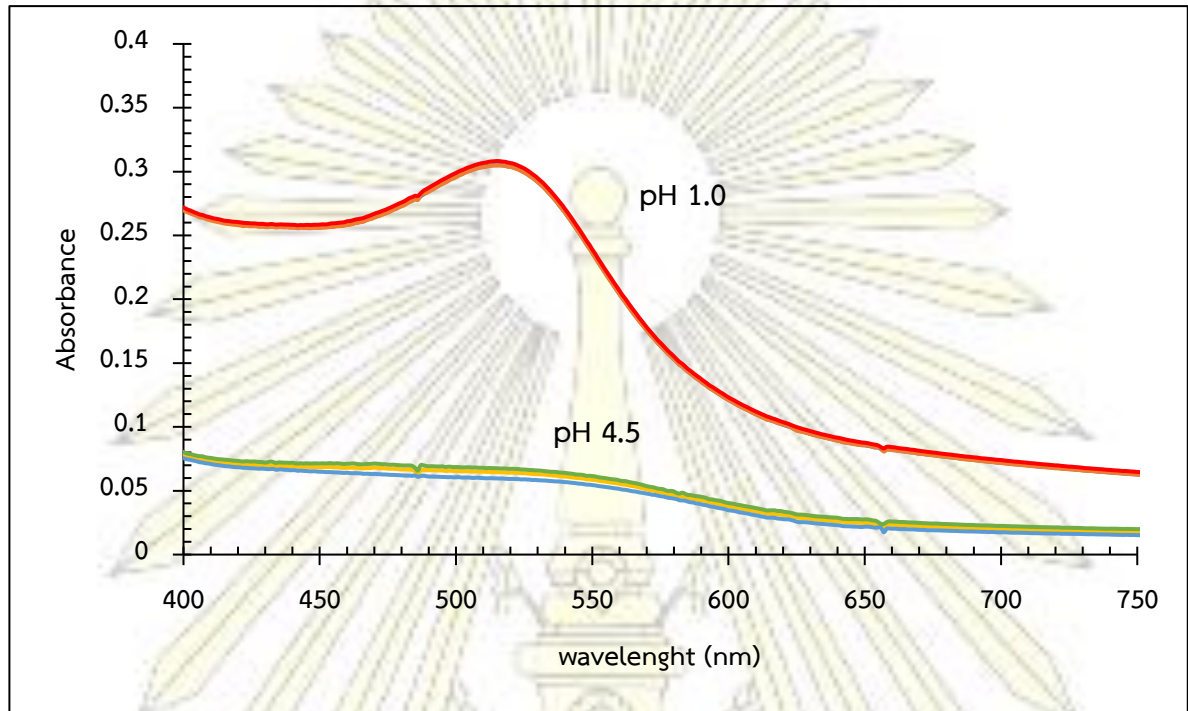
รูปที่ 3.2 สีของสารสกัดแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดแบ่งข้าวไรซ์เบอร์รี่ ที่ถูกละลายด้วย 50% เอทานอล (a) การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายแอนโทไซยานินเมื่อทำการเจือจางด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลต่อลิตร pH 1.0 (b) และสารละลายโซเดียมแอสซิเตตความเข้มข้น 0.4 โมลต่อลิตร pH 4.5 (c)

ตารางที่ 3.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 516 และ 700 นาโนเมตร ที่ pH 1 และ 4.5

| สารละลาย | Absorbance | | | | | |
|----------|------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | $A_{\lambda \text{ vis-max}} (516 \text{ nm})$ | | | $A_{700} (700 \text{ nm})$ | | |
| | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | ครั้งที่ 1 | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 |
| pH 1 | 0.30508 | 0.30472 | 0.30818 | 7.1902×10^{-2} | 7.1725×10^{-2} | 7.4061×10^{-2} |
| pH 4.5 | 6.4517×10^{-2} | 5.9559×10^{-2} | 6.7451×10^{-2} | 2.0015×10^{-2} | 1.7411×10^{-2} | 2.2446×10^{-2} |

จากนั้นนำสารละลายแอนโทไซยานินทั้งสองที่ทำการเจือจางด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลต่อลิตร pH 1.0 และสารละลายโซเดียมแอสซิเตตความเข้มข้น 0.4 โมลต่อลิตร pH 4.5 ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวีวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี ที่ความยาวคลื่น 516 และ 700 นาโนเมตร พบว่า ที่สารละลายแอนโทไซยานินที่เจือจางด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลต่อลิตร pH

1.0 มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นประมาณ 516 นาโนเมตร ดังกราฟที่ 3.1 จากนั้นจึงนำค่าการดูดกลืนแสงของทั้งสองความยาวคลื่นไปคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานิน



กราฟที่ 3.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแอนโทไซยานินที่เจือจาง 10 ด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลไรด์ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ pH 1.0 และสารละลายโซเดียมอะซิเตดความเข้มข้น 4.0 โมลาร์ pH 4.5 ที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ

ในการคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดจากข้าวไรซ์เบอร์รี่โดยใช้วิธี pH differential [18] จากสมการ ดังนี้

$$A = (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700})_{pH1} - (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700})_{pH4.5} \quad (1)$$

$$\text{Total Anthocyanin content} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times l} \quad (2)$$

โดยที่

A คือ ค่าการดูดกลืนแสง

MW คือ มวลโมเลกุลของ Cy-3-glu คือ 449.2 g/mol

ϵ คือ Molar absorptivity ของ Cy-3-glu = 26,900 L/mol*cm

$A_{\lambda_{vis-max}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด

DF คือ Dilution factor = 10

โดยแสดงการคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ของครั้งที่ 1 จะได้ว่า

$$A = (0.30508 - 7.1902 \times 10^{-2}) - (6.4517 \times 10^{-2} - 2.0015 \times 10^{-2}) = 0.18868$$

$$\text{Total Anthocyanin (mg/L)} = \frac{0.18868 \times 449.2 \text{ g/mol} \times 10 \times 1000 \text{ mg}}{26,900 \text{ L/mol} \cdot \text{cm} \times 1 \text{ cm} \times 1 \text{ g}} = 31.5 \text{ mg/L}$$

$$\text{Total Anthocyanin (mg/g)} = \frac{31.5 \text{ mg/L} \times 10 \text{ mL} \times 1 \text{ L} \times 1000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL} \times 1 \text{ g} \times 30.08 \text{ mg}} = 10.5 \text{ mg/g}$$

ตารางที่ 3.2 ค่าปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่

| | ปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ (mg/L) | ปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ (mg/g) |
|------------|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| ครั้งที่ 1 | 31.5 | 10.5 |
| ครั้งที่ 2 | 31.9 | 10.6 |
| ครั้งที่ 3 | 31.6 | 10.5 |
| เฉลี่ย | 31.7±0.2 | 10.5±0.1 |

เมื่อคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานิน ตามสมการที่ (1) และ (2) พบว่า ได้ปริมาณแอนโทไซยานิน ประมาณ 10.5±0.1 มิลลิกรัมต่อกรัม ที่ตั้งแสดงในตารางที่ 3.2 ซึ่งเมื่อนำมาเทียบกับปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัด จากงานวิจัยของ Rattanachaisit และ Kongkiattikajorn [7] พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จาก ข้าวไรซ์เบอร์รี่ เท่ากับ 1.7±0.04 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยใช้เมทานอลในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร (70:30 โดยปริมาตร) และจากงานวิจัยของ Pukdee และคณะ [16] พบว่าได้ปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่เท่ากับ 18.4±3.0 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยใช้ 80% เอทานอลในการสกัด ซึ่งจะเห็นว่าการสกัดด้วย 80% เอทานอล มีแนวโน้มที่จะสกัดแอนโทไซยานินได้มากกว่าการใช้เมทานอลในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร และเมื่อมาเปรียบเทียบกับ 80% เอทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัด พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ในงานวิจัยนี้ได้ น้อยกว่างานวิจัยของ Pukdee ซึ่งอาจเกิดจากภาวะที่ใช้ในการสกัด การเก็บรักษาอาจทำให้แอนโทไซยานินมีการสลายตัว และแหล่งปลูกหรือสายพันธุ์ที่ต่างกัน

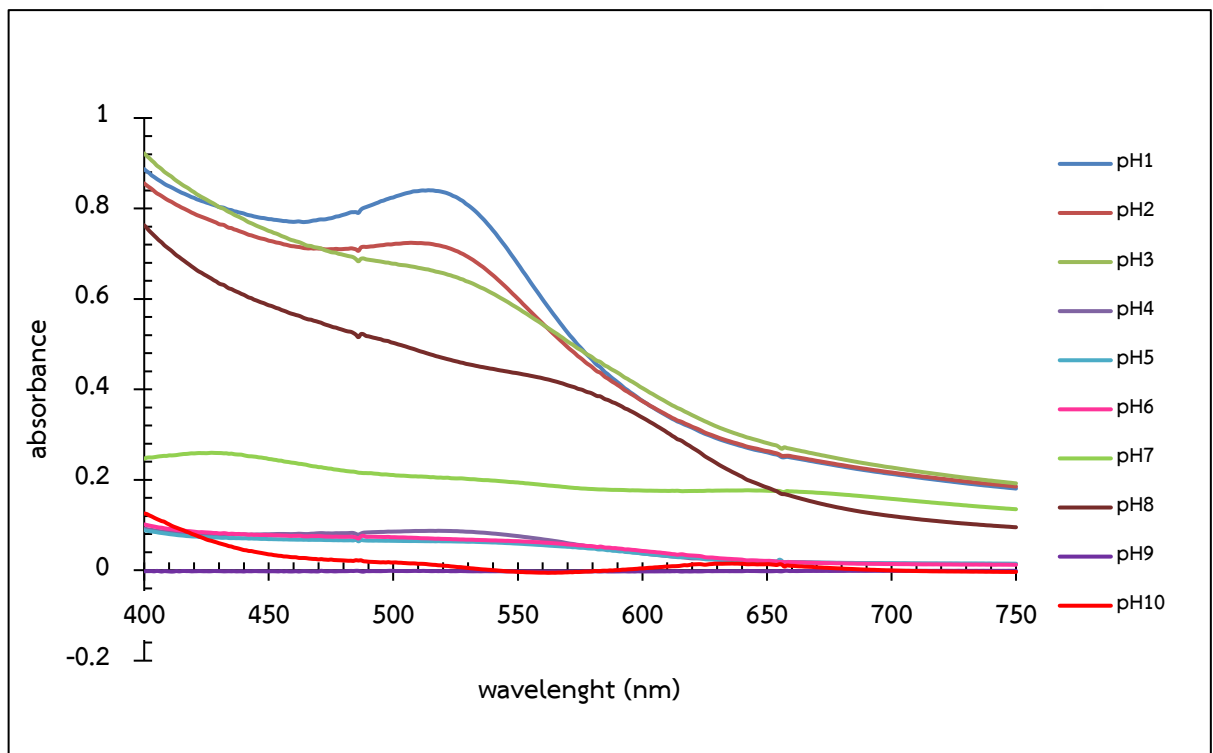
3.2 การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายแอนโทไซยานินโดยเทคนิค UV-vis spectroscopy

รูปที่ 3.3 แสดงให้เห็นว่า สารละลายแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่มีการเปลี่ยนแปลงสีจากสีแดงไปเป็นสีน้ำตาลที่ pH ตั้งแต่ 1.0-10.0 โดยที่มีการเปลี่ยนสีจากสีชมพูไปเป็นสีแดงเมื่อมีความเป็นกรดมากขึ้น และจะเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลเมื่อมีความเป็นเบสมากขึ้น จากสเปกตรัมของสารละลายแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ในช่วง pH ระหว่าง 1.0-10.0 ดังกราฟที่ 3.2 พบว่าที่ pH 1.0 จะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นประมาณ 514 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงสีเขียวคือ ช่วงประมาณ 490-570 นาโนเมตร ในขณะที่เรามองเห็นสีของสารละลายเป็นสีแดงซึ่งการดูดกลืนแสงในช่วงตามองเห็นมีความเกี่ยวข้องกับสีคู่ตรงข้าม (complementary color) คือ ความยาวคลื่นของแสงสีที่ดูดกลืนไปจะทำให้มองเห็นเป็นสีตรงข้ามกับสีที่ถูกดูดกลืนไป ดังนั้นสารละลายที่ pH 1.0 จึงมองเห็นเป็นสีแดง ที่ pH 4.0-6.0 จะไม่พบพีคการดูดกลืนแสงเนื่องจากเมื่อเทียบกับสีของสารละลายในช่วงนี้พบว่า สีของสารละลายมีแนวโน้มเป็นสารละลายใสไม่มีสีเมื่อสังเกตด้วยตา ดังนั้นในช่วง visible light ที่ความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตรจึงไม่พบพีคของการดูดกลืนแสง และที่ pH 7.0 จะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ที่ 655 นาโนเมตร และที่ pH 8.0 จะมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ที่ 488 นาโนเมตร ซึ่งจะสังเกตได้ว่าพีคทั้ง 2 นั้นการดูดกลืนแสงที่มีลักษณะเป็นแถบที่กว้าง และเมื่อ pH 9-10 จะไม่พบค่าการดูดกลืนแสงในช่วงแสงที่ตามองเห็น (visible light) และการเปลี่ยนสีของสารละลายที่เกิดขึ้นเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนโครงสร้างของแอนโทไซยานินซึ่งขึ้นอยู่กับค่า pH ของสารละลาย ที่ความเป็นกรดในช่วง pH 1.0-3.0 โครงสร้างแอนโทไซยานินจะรูป flavylium cation อยู่มากซึ่งจะสังเกตเห็นเป็นสีม่วงหรือสีแดง และในช่วง pH 2.0-3.0 จะมี quinoidal base เป็นโครงสร้างที่มีมากในสภาวะนี้ เมื่อ pH เพิ่มขึ้นเป็น 5.0 และ 6.0 ก่อให้เกิดการลดลงของความเข้มข้นและความเข้มข้นของ flavylium cation ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาไฮเดรชัน (Hydration) เกิดเป็น carbinol pseudobase และ chalcone ที่ไม่มีสี การคอนจูเกตโครงสร้าง benzo-pyrylium ถูกขัดขวางเนื่องจาก nucleophilic attack ของโมเลกุลของน้ำที่ตำแหน่งที่ 2 ของโครงสร้างแอนโทไซยานิน ซึ่งการเกิด nucleophilic attack โดยโมเลกุลของน้ำในแอนโทไซยานินจาก colourless pseudobase และ heiacetal หรือ carbinol การสูญเสียโปรตอนจะเกิดขึ้นเมื่อสารละลายมีค่า pH สูงขึ้น โดยเมื่อ pH มากกว่า 4 hydroxyl group ที่ตำแหน่งที่ 4 จะมีการสูญเสียโปรตอนเกิดขึ้น และอยู่ในรูป blue quinoidal base เมื่อ pH มากกว่า 7 hydroxyl group ที่ตำแหน่งที่ 7 จะมีการสูญเสียโปรตอนเกิดขึ้น และอยู่ในรูป quinoidal base ที่มีประจุเป็นลบ [21]





รูปที่ 3.3 การเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินที่ได้จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ pH ต่าง ๆ



กราฟที่ 3.2 สเปกตรัมของการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินที่ได้จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ ที่ pH ต่าง ๆ

3.3 การเตรียมฟิล์มจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่

ในการเตรียมฟิล์มจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ในช่วงแรก นำแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่มาประมาณ 0.5 กรัม และ 0.25 กรัม ละลายด้วยกรดฟอร์มิกปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร นำไปคนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าจนกระทั่งสารละลายหนืดไม่สามารถกวนต่อไปได้ จึงค่อยใส่น้ำปราศจากไอออนลง และกวนต่อไปจนเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นใส่กลีเซอรอลประมาณ 1 หยด เนื่องจากกลีเซอรอลจะทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์ (plasticizer) โดยหลักการของ plasticizer ประกอบด้วยการกำจัดพันธะไฮโดรเจน และเพิ่มปริมาณความเป็นอิสระที่เกี่ยวข้อง

กับการเคลื่อนที่ของสายโซ่ของแป้งให้สูงขึ้น และลด Tg (glass transition temperature) หรืออุณหภูมิที่พอลิเมอร์เปลี่ยนสถานะแก้ว (glass state) เป็นสถานะยาง (rubber state) ผลที่ตามมาคือการแทนที่ของพันธะไฮโดรเจนโดยตรงระหว่างโมเลกุลแป้ง ส่งผลในการทำลายโครงสร้างเดิม ทำให้เกิดการเชื่อมกันระหว่างโมเลกุลแป้ง ซึ่งปริมาณของ plasticizer มีผลโดยตรงต่ออุณหภูมิที่พอลิเมอร์เปลี่ยนสถานะแก้วเป็นสถานะยาง [22] ซึ่งทำให้ฟิล์มที่เตรียมขึ้นมามีลักษณะเป็นแผ่น มีความเป็นเนื้อเดียวกัน ยืดหยุ่นไม่เปราะแตกง่าย และอ่อนตัว และหลังจากที่หยดกลีเซอรอลแล้วจะกวนต่อไปอีกเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำสารละลายมาเกลี่ยให้เป็นฟิล์มบาง (casting) ลงบนภาชนะ และทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วันจนฟิล์มแห้ง พบว่าฟิล์มที่มีปริมาณแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ 0.5 กรัม มีสีแดงเข้มมากดังรูปที่ 3.4 a เมื่อเทียบกับฟิล์มที่มีปริมาณแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ 0.25 กรัม ดังรูปที่ 3.4 b มีสีที่อ่อนกว่า และฟิล์มที่เตรียมขึ้นมายังไม่มีความเสถียรของสีเนื่องจากเมื่อทิ้งไว้เป็นเวลานาน ฟิล์มจะมีการเปลี่ยนสีเนื่องจากแอนโทไซยานินเกิดการสลายตัวเนื่องจากแสงในระหว่างรอฟิล์มแห้ง



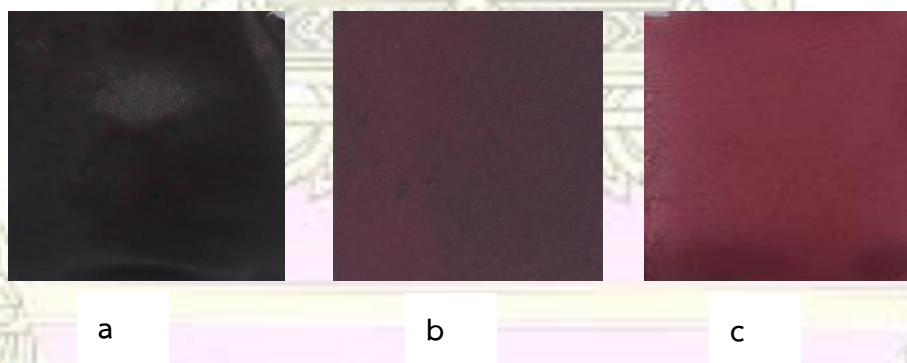
รูปที่ 3.4 สีของฟิล์มที่เตรียมขึ้นจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ปริมาณ 0.5 กรัม (a) และ 0.25 กรัม (b)

จากนั้นจึงทำการเตรียมฟิล์มด้วยวิธีเดิม แต่ทำการเปลี่ยนปริมาณของแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่โดยนำแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่มา 0.25 กรัม และ 0.1 กรัม โดยในหลังจากขั้นตอนการนำสารละลายมาเกลี่ยให้เป็นฟิล์มบางนั้น (casting technique) จะทำการปิดภาชนะด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์โดยเจาะรูเพียงเล็กน้อย แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 7 วันจนฟิล์มแห้ง ซึ่งตัวฟิล์มมีความเสถียรมากขึ้นคือ สีของฟิล์มเมื่อทิ้งเอาไว้จะไม่มีการเปลี่ยนสีของฟิล์มเกิดขึ้น เมื่อมาเปรียบเทียบสีของฟิล์มพบว่า ฟิล์มที่ใช้แป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ปริมาณ 0.10 กรัม ดังรูปที่ 3.5 b มีสีแดงที่อ่อนกว่า ฟิล์มที่ใช้แป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ปริมาณ 0.25 กรัม ดังรูปที่ 3.5 a แต่ฟิล์มทั้งสองยังมีสีที่เข้มอยู่



รูปที่ 3.5 สีของฟิล์มที่เตรียมขึ้นจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ปริมาณ 0.25 กรัม (a) และ 0.10 กรัม (b) โดยทำการปิดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์และเก็บในที่มืดระหว่างรอให้ฟิล์มแห้ง

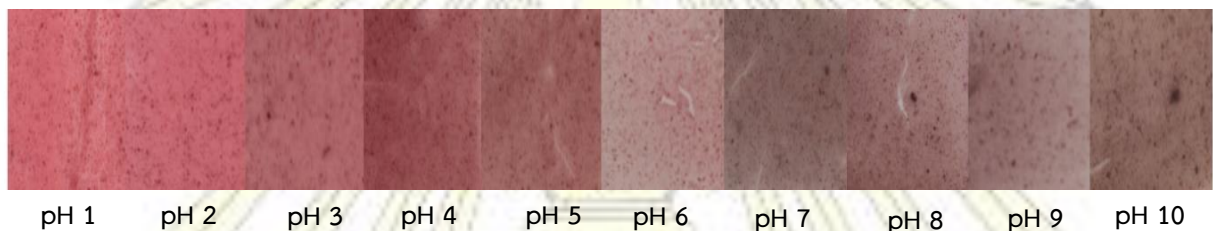
ซึ่งจากผลการทดลองข้างต้น ฟิล์มที่เตรียมขึ้นมานั้นจะมีลักษณะสีของฟิล์มเป็นสีแดงเข้มซึ่งยากต่อการดูการเปลี่ยนสีที่เกิดขึ้น ดังนั้นจึงมีการเพิ่มแป้งข้าวโพดมาเป็นส่วนประกอบในการเตรียมฟิล์มจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ เพื่อให้สีของฟิล์มที่เตรียมขึ้นมานั้นมีสีที่อ่อนลง เนื่องจากแป้งข้าวโพดเป็นแป้งที่มีสีขาวและมีปริมาณอะไมโลสสูงเมื่อเทียบกับแป้งชนิดอื่นจึงทำให้ฟิล์มที่เตรียมขึ้นมามีคุณสมบัติที่สามารถจับตัวเป็นแผ่นแข็งได้ โดยการเตรียมฟิล์มในอัตราส่วนระหว่างแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่และแป้งข้าวโพด ดังนี้ 0:1, 1:1, 1:4 ซึ่งซึ่งให้มีน้ำหนักโดยรวมของแป้งเป็น 1.0 กรัม และละลายด้วยกรดฟอร์มิกปริมาตร 3.6 มิลลิลิตร และคนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าจนสารละลายหนืดไม่สามารถกวนต่อไปได้ จึงค่อยใส่น้ำปราศจากไอออนปริมาตร 6 มิลลิลิตร และกวนต่อไปจนเป็นเนื้อเดียวกันจากนั้นใส่กลีเซอรอลประมาณ 2 หยด เพื่อให้ฟิล์มที่เตรียมขึ้นมีความยืดหยุ่นและไม่เปราะง่าย และกวนต่อไปอีกเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำสารละลายมาปริมาตร 3.5 มิลลิลิตร เกลี่ยสารละลายลงในภาชนะขนาด 3.5×3 เซนติเมตร ให้เป็นฟิล์มบาง (casting technique) และปิดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์โดยเจาะรูเพียงเล็กน้อยทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน จนฟิล์มที่เตรียมแห้ง ซึ่งฟิล์มที่เตรียมขึ้นมาในอัตราส่วนระหว่างแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่และแป้งข้าวโพดนั้น ที่อัตราส่วน 0:1 ดังรูปที่ 3.6 a จะสังเกตเห็นว่าลักษณะของฟิล์มมีสีน้ำตาลเข้ม และที่อัตราส่วน 1:1 ดังรูป 3.6 b สังเกตเห็นว่าสีของฟิล์มมีสีเป็นสีแดงเข้มซึ่งเป็นสีที่อ่อนลงเมื่อเทียบกับฟิล์มที่ไม่ได้ใส่แป้งข้าวโพดลงไป ทั้งนี้ที่อัตราส่วน 1:4 ดังรูปที่ 3.6 c ฟิล์มที่เตรียมขึ้นจะสังเกตเห็นว่า ฟิล์มมีสีแดงแต่จะมีสีที่อ่อนกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับฟิล์มที่เตรียมจาก 2 อัตราส่วนที่กล่าวมาข้างต้น เนื่องจากมีปริมาณแป้งข้าวโพดที่เพิ่มลงไปฟิล์มมากขึ้น ดังนั้นฟิล์มจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่เตรียมขึ้นจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ และแป้งข้าวโพดในอัตราส่วน 1:4 มีแนวโน้มที่จะสามารถสังเกตเห็นการเปลี่ยนของฟิล์มใน pH ต่าง ๆ ได้ชัดเจนกว่าอัตราส่วนอื่น เพราะที่อัตราส่วนนี้สีของฟิล์มที่ได้มีสีที่อ่อนกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนอื่น



รูปที่ 3.6 เปรียบเทียบสีของฟิล์มที่เตรียมขึ้นมาจากแป้งจากข้าวไรซ์เบอร์รี่และแป้งข้าวโพด ในอัตราส่วนระหว่างแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่และแป้งข้าวโพด 0:1 (a) 1:1 (b) 1:4 (c)

3.4 การทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีของฟิล์มที่ pH ต่าง ๆ

ทำการทดสอบการเปลี่ยนสีของฟิล์มใน pH ต่าง ๆ ตั้งแต่ pH 1.0-10.0 โดยการจุ่มฟิล์มในสารละลาย พบว่าสีของฟิล์มจะเปลี่ยนจากสีแดงไปเป็นสีน้ำตาลเมื่อ pH มีค่าสูงขึ้นเรื่อย ๆ ดังแสดงในรูปที่ 3.7 ซึ่งสามารถเห็นการเปลี่ยนสีที่เกิดขึ้นด้วยตาได้ และการเปลี่ยนสีของฟิล์มมีความเกี่ยวข้องกับความแตกต่างของโครงสร้างทางเคมีของโมเลกุลแอนโทไซยานินซึ่งขึ้นอยู่กับ pH ของสารละลาย โดยโครงสร้างแอนโทไซยานินจะเกิดการเปลี่ยนโครงสร้างขึ้นเช่นเดียวกับสารละลายที่กล่าวในข้างต้น และจะสังเกตเห็นจุดสีดำที่บริเวณแผ่นฟิล์ม ฟิล์มที่เตรียมขึ้นมาจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่นั้น ไม่ได้นำสารสกัดแอนโทไซยานินมาใช้ในการเตรียมฟิล์ม แต่นำแป้งจากข้าวไรซ์เบอร์รี่มาเตรียมเป็นฟิล์มโดยตรง ดังนั้นแป้ง (flour) ซึ่งประกอบด้วยแป้งบริสุทธิ (starch) หรือคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลัก และสารประกอบอื่น ๆ เช่น โปรตีนและไขมัน และอาจจะมีสารประกอบอื่นที่อยู่ในแป้งที่ไม่สามารถละลายในกรดฟอร์มิกได้ รวมถึงขนาดแป้งมีความละเอียดไม่เท่ากัน ดังนั้นจึงทำให้มองเห็นเป็นจุดสีดำที่บริเวณแผ่นฟิล์ม



รูปที่ 3.7 การเปลี่ยนสีของฟิล์มที่ pH ต่าง ๆ

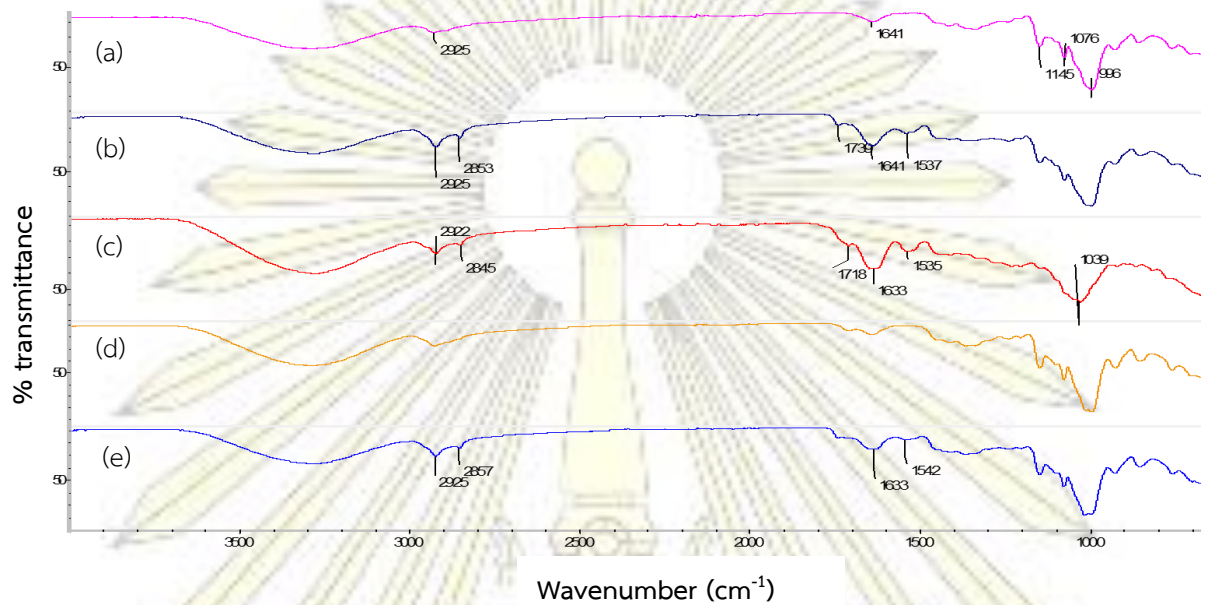
3.5 การหาเอกลักษณ์เฉพาะของ pH indicator film ด้วยเทคนิค FT-IR spectroscopy

จากอินฟราเรดสเปกตรัมของแป้งข้าวโพด ดังรูปที่ 3.8 a พบพีคลักษณะกว้างของ O-H stretching ที่ตำแหน่ง $3,300\text{ cm}^{-1}$ และพีค O-H bending ที่ $1,641\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเป็นลักษณะของโมเลกุลของน้ำในแป้ง และที่ตำแหน่ง $2,925\text{ cm}^{-1}$ เป็นพีคของ C-H bending และที่ $1,145\text{ cm}^{-1}$ และ $1,076\text{ cm}^{-1}$ มีความเกี่ยวข้องกับ bending และ stretching ที่ไม่สมมาตรของ C-O, C-C และพันธะ O-H stretching และ C-O-C พันธะไกลโคซิดิก [5,9,18]

จากอินฟราเรดของสารสกัดแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ ดังรูปที่ 3.8 c พบพีคระหว่าง $2,800\text{--}3,300\text{ cm}^{-1}$ และที่ตำแหน่ง $1,718\text{ cm}^{-1}$ และ 1039 cm^{-1} จะเป็นลักษณะของ carboxyl group ซึ่งคือ O-H stretching และ C=O และ out of plane bending ของ -OH ตามลำดับ ทั้งนี้ที่ตำแหน่ง $1,535\text{ cm}^{-1}$ และ $1,636\text{ cm}^{-1}$ จะเกี่ยวข้องกับ C=C ของวงแหวนโรมาติกซึ่งเป็นลักษณะของแอนโทไซยานิน [5,8,9]

ทั้งนี้สังเกตเห็นว่าที่อินฟราเรดสเปกตรัมของแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ ดังรูปที่ 3.8 b พบพีคที่เป็นลักษณะของแป้งเช่นเดียวกับแป้งข้าวโพด และแอนโทไซยานินอยู่ด้วยกัน

จากอินฟราเรดสเปกตรัมของฟิล์มแข็งข้าวโพดดังรูปที่ 3.8 d และฟิล์มแข็งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่มีการเพิ่มแข็งข้าวโพดลงไป ดังรูปที่ 3.8 e พบว่า ฟิล์มแข็งจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่มีการเพิ่มแข็งข้าวโพดลงไปพบพิกที่เป็นลักษณะของแอนโทไซยานินอยู่ เมื่อเทียบกับฟิล์มข้าวโพด ดังนั้นฟิล์มที่เตรียมจากแข็งจากข้าวไรซ์เบอร์รี่และแข็งข้าวโพดนั้นสามารถรวมกันได้



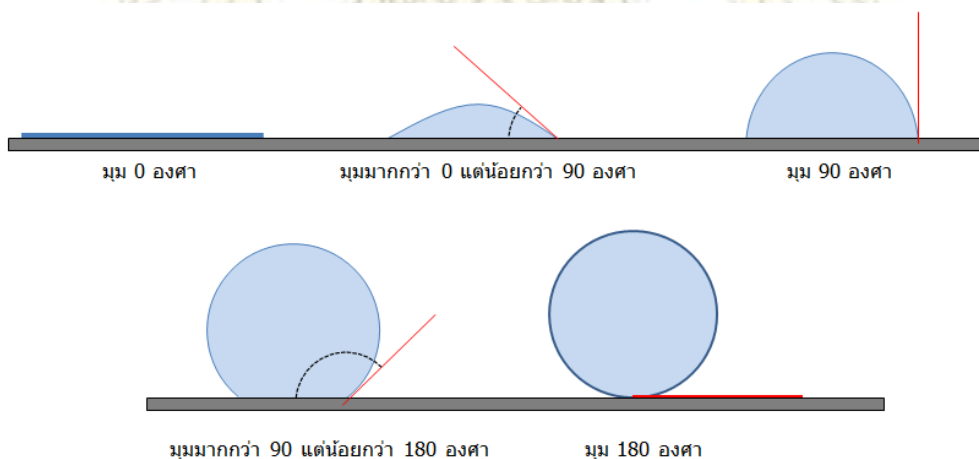
รูปที่ 3.8 อินฟราเรดสเปกตรัมของแข็งข้าวโพด (a) แข็งข้าวไรซ์เบอร์รี่ (b) สารสกัดแอนโทไซยานินจากแข็งข้าวไรซ์เบอร์รี่ (c) ฟิล์มแข็งข้าวโพด (d) และฟิล์มแข็งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่มีการเพิ่มแข็งข้าวโพด (e)

3.6 การวิเคราะห์มุมสัมผัส (contact angle) ของฟิล์ม

ตารางที่ 3.3 ค่ามุมสัมผัส (contact angle) ของฟิล์ม

| ครั้งที่ | Contact angle (°) | | |
|------------------------|-------------------|------|----------|
| | ซ้าย | ขวา | เฉลี่ย |
| 1 | 72.1 | 73.8 | 73.0 |
| 2 | 76.8 | 73.7 | 75.3 |
| 3 | 78.4 | 73.7 | 78.6 |
| 4 | 76.9 | 82.2 | 79.6 |
| 5 | 79.6 | 79.8 | 79.7 |
| Contact angle ของฟิล์ม | | | 77.2±2.9 |

ค่ามุมสัมผัส (contact angle) ใช้ในการจำแนกสมบัติความชอบหรือไม่ชอบน้ำของพื้นผิววัสดุ ดังรูปที่ 3.9 แสดงทำการวัดมุมระหว่างผิวหยดน้ำกับผิววัสดุ หากหยดน้ำกับวัสดุมีมุมสัมผัสระหว่างผิวน้อยกว่า 90 องศา แสดงว่าผิววัสดุมีสมบัติชอบน้ำหรือเป็นผิวไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) ถ้ามุมสัมผัสระหว่างผิวอยู่ระหว่าง 90-150 องศา แสดงว่าผิววัสดุมีสมบัติไม่ชอบน้ำหรือผิวไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) และถ้าหยดน้ำกับพื้นผิวมีค่ามุมสัมผัสระหว่างผิวดั้งแต่ 150-180 องศา แสดงว่าผิววัสดุนั้นมีสมบัติไม่ชอบน้ำยิ่งยวดหรือเป็นผิวซูเปอร์ไฮโดรโฟบิก (superhydrophobic) [23]



รูปที่ 3.9 การวัดมุมสัมผัสระหว่างผิวหยดน้ำกับผิววัสดุ [24]

ในงานวิจัยนี้ นำฟิล์มจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่มีการเพิ่มแป้งข้าวโพดลงไปวัดมุมสัมผัส สังเกตเห็นตามรูปที่ 3.10 ว่าลักษณะของหยดน้ำค่อนข้างแบนและไม่โค้งนูนมาก ซึ่งค่ามุมสัมผัสที่ได้จากการวัดฟิล์มจะมีค่าดังตารางที่ 3.3 ซึ่งฟิล์มมีมุมสัมผัสประมาณ 77.2 ± 2.9 องศา ดังนั้นฟิล์มที่เตรียมขึ้นมานั้นมีสมบัติชอบน้ำหรือเป็นผิวไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) ทำให้สามารถสังเกตการเปลี่ยนสีของฟิล์มที่ pH ต่าง ๆ ได้ ซึ่งฟิล์มที่มีความชอบน้ำ การขนส่งของน้ำเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยากับพอลิเมอร์ ทำให้มีการดูดซับน้ำสูง และการเปลี่ยนแปลงในสารประกอบและในโครงสร้าง [25]



รูปที่ 3.10 ลักษณะของหยดน้ำบนแผ่นฟิล์มระหว่างการวัดมุมสัมผัส

3.7 การวัดความหนาของฟิล์มด้วยไมโครมิเตอร์

ตารางที่ 3.4 ค่าการวัดความหนาของฟิล์มด้วยไมโครมิเตอร์จากการสุ่ม 20 ครั้ง

| ครั้งที่ | film (mm) | ครั้งที่ | film (mm) |
|----------------------------|-----------|-------------------------------|-----------|
| 1 | 0.16 | 11 | 0.16 |
| 2 | 0.16 | 12 | 0.16 |
| 3 | 0.15 | 13 | 0.16 |
| 4 | 0.15 | 14 | 0.16 |
| 5 | 0.16 | 15 | 0.14 |
| 6 | 0.15 | 16 | 0.16 |
| 7 | 0.16 | 17 | 0.15 |
| 8 | 0.16 | 18 | 0.14 |
| 9 | 0.15 | 19 | 0.14 |
| 10 | 0.15 | 20 | 0.15 |
| ความหนาของฟิล์มเฉลี่ย (nm) | | $0.15 \pm 7.5 \times 10^{-3}$ | |

นำฟิล์มที่เตรียมขึ้นมาจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่มีการเพิ่มแป้งข้าวโพดลงไปในอัตราส่วน 1:4 ของแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่และแป้งข้าวโพด มาวัดความหนาของฟิล์มด้วยไมโครมิเตอร์ซึ่งจะได้ความหนาของฟิล์ม ดังตารางที่ 3.4 จะเห็นว่าฟิล์มมีความหนาใกล้เคียงกันประมาณ $0.15 \pm 7.45 \times 10^{-3}$ มิลลิเมตร ซึ่งอยู่ในระดับที่น่าพึงพอใจ เพราะจากการทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีของฟิล์มพบว่า ฟิล์มยังคงเป็นแผ่นอยู่เมื่อแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ pH ต่าง ๆ เป็นเวลา 10 นาที และในการวัดความหนาของฟิล์ม เป็นการบอกถึงลักษณะทางกายภาพที่สำคัญของฟิล์ม โดยความหนาของฟิล์มมีส่วนในการประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของฟิล์ม และยังเกี่ยวข้องกับสมบัติขวางกั้น (barrier properties) และสมบัติเชิงกล (mechanical properties) ต่าง ๆ และจากงานวิจัยของ Borges และคณะ ได้มีการศึกษาความหนาของฟิล์มจากข้าวในช่วง 0.06 ถึง 0.08 นาโนเมตร พบว่าเมื่อฟิล์มมีความหนาขึ้น จะมีคุณสมบัติเชิงกลที่สูงขึ้น และมีความสามารถในการละลายน้ำที่ต่ำลง [26]

ดังนั้นจากงานวิจัยนี้ความหนาของฟิล์มอาจจะสรุปไม่ว่าฟิล์มมีคุณสมบัติเชิงกลที่สูงขึ้น และมีความสามารถในการละลายน้ำลดลงได้อาจต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมอีก เนื่องจากในงานวิจัยนี้ไม่ได้ทดสอบการเปลี่ยนความหนาของฟิล์ม แต่อาจเป็นไปได้ตามแนวโน้ม เมื่อฟิล์มมีความหนาขึ้นจะมีคุณสมบัติเชิงกลที่ดีขึ้นและการละลายน้ำที่ลดลง

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

4.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการเตรียมฟิล์มจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่เพื่อใช้ในการตรวจวัดพีเอช และทำการสกัดแอนโทไซยานินจากข้าวไรซ์เบอร์รี่เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้นที่ pH ต่าง ๆ (1.0-10.0) ในรูปของสารละลาย โดยทำการสกัดแอนโทไซยานินจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วย 80% เอทานอล (80:20 = เอทานอล : น้ำ) ในอัตราส่วน 1:10 (raw material : solvent) แล้วปรับให้สารละลายมี pH เป็น 2.2 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร และนำไปกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง นำไปเซนทริฟิวส์ 5,000 rpm ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และดูส่วนสารละลายออกมานำไปตั้งทิ้งไว้รอจนแห้งได้เป็นสารสกัดออกมาซึ่งในระหว่างนี้จะเก็บไว้ในที่มืดและปิดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์เพื่อป้องกันการสลายของแอนโทไซยานิน จากนั้นนำสารสกัด (crude) ที่ได้ไปละลายด้วย 50% เอทานอล และทำการหาปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธีพีเอชดิฟเฟอเรนเชียล (pH differential method) ซึ่งพบว่าปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ประมาณ 10.5 ± 0.1 มิลลิกรัมต่อกรัม และเมื่อนำไปทดสอบที่ pH ต่าง ๆ พบว่าสารละลายมีแนวโน้มการเปลี่ยนสีจากแดงไปเป็นสีน้ำตาลเมื่อ pH เพิ่มขึ้น ในส่วนของการเตรียมฟิล์มแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่นั้น ทำโดยการใช้แป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ผสมแป้งข้าวโพดในอัตราส่วน 1:4 และใช้กรดฟอร์มิก และน้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลาย ซึ่งใช้กลีเซอรอลเป็นพลาสติกไซเซอร์ (plasticizer) พบว่าฟิล์มที่ได้มีลักษณะเป็นแผ่นและไม่แตกหักง่าย ซึ่งนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีด้วยโหมด ATR นั้นพบว่าแป้งทั้งสองชนิดสามารถรวมกันเป็นฟิล์มได้ และเมื่อทำไปวัดค่ามุมสัมผัพบว่า ฟิล์มที่ได้มีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) และมีความหนาประมาณ 0.15 ± 0.01 มิลลิเมตร และเมื่อนำไปทดสอบที่ pH ต่าง ๆ พบว่าฟิล์มมีแนวโน้มในการเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำตาลเมื่อ pH สูงขึ้น เช่นเดียวกับสารละลาย

4.2 ข้อเสนอแนะ

สำหรับการสกัดแอนโทไซยานินจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่นั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมดังนี้

1. ศึกษาแอนโทไซยานินจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ว่าสารที่สกัดได้นั้นประกอบไปด้วยสารประกอบอะไรบ้าง ที่มีส่วนทำให้แอนโทไซยานินจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ละลายน้ำได้น้อยลง
2. ศึกษาวิธีการสกัดเพื่อให้แอนโทไซยานินจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้น

สำหรับการเตรียมฟิล์มจากแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่เพื่อใช้ในการตรวจวัดพีเอชนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติม ดังนี้

1. ศึกษาการพัฒนาและปรับปรุงวิธีการเตรียมจากข้าวไรซ์เบอร์รี่เพื่อแก้ไขข้อจำกัด และได้ฟิล์มที่มีคุณสมบัติที่ดีขึ้น
2. ศึกษาคุณสมบัติของฟิล์มจากข้าวไรซ์เบอร์รี่
3. ทำการทดสอบความหนาของฟิล์มในช่วงความหนาต่าง ๆ ต่อผลของคุณสมบัติของฟิล์มที่เตรียมขึ้น
4. ศึกษาเพิ่มเติมโดยนำไปทดสอบกับตัวอย่างจริงเพื่อการเปลี่ยนสีของฟิล์มที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเปลี่ยน pH ของอาหารที่เกิดการเน่าเสีย เพื่อที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบความสดของอาหาร



เอกสารอ้างอิง

1. Ocaño, H. V. M.; Maeda, M. A. N.; Marquez, R. E.; Canizales, R. D. F.; Castillo, Y. F. J.; Ruíz, B. E.; Plascencia, J. M. Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical, chemical and physical methods. *Food Chemistry*, **2011**, *125*, 49–54.
2. Qiao, L.; Tang, X. Y.; Dong, J. feasibility quantification study of total volatile basic nitrogen (TVB-N) content in duck meat for freshness evaluation. *Food Chemistry*, **2017**, *237*, 1179-1185.
3. Golasz, L. B.; Silva, J. d.; Silva, S. B. D. Film with anthocyanins as an indicator of chilled pork deterioration. *Food Science and Technology*, **2013**, *33*, 155–162.
4. Chen, X.; Gu, Z. Absorption-type optical pH sensitive film based on immobilized purple cabbage pigment. *Sensor and Actuator B: Chemical*, **2013**, *178*, 207-211.
5. Choi, I.; Lee, J. Y.; Lacroix, M.; Han, J. Intelligent pH indicator film composed of agar/ potato starch and anthocyanin extract from purple sweet potato. *Food Chemistry*, **2017**, *218*, 122-128.
6. Huang, X. W.; Zou, X. B.; Shi, J. Y.; Guo Y.; Zhao, J. W.; Zhang, J.; Hao L. Determination of pork spoilage by colorimetric gas sensor array based on natural pigments. *Food Chemistry*, **2014**, *145*, 549-554.
7. Rattanachaisit, P.; Kongkiattikajorn, J. Antioxidative activities of bran extracts from pigmented cultivars. In The International Conference on Herbal and Traditional Medicine (HTM 2015), **2015**, 33-42.
8. Zhai, X.; Shi, J.; Zou, X.; Wang, S.; Ji,ang, C.; Zhang, J.; Huang, X.; Zhang, W.; Holmes, M. Novel colorimetric film based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with roelle anthocyanins for fish freshness monitoring. *Food Hydrocolloids*. **2017**, *69*, 308-317.
9. Luchese, C. L.; Sperotto, N.; Spada, C. J.; Tessaro, I. C. Effect of Blueberry ago-industrial waste addition to corn starch-based film for the production of a pH-indicator film. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2017**, *104*, 11-18.
10. Zhang, X.; Lu, S.; Chen, X. A visual pH sensing film using natural dyes from *Bauhinia blakeana* Dunn. *Sensor and Actuator B: Chemical*, **2014**, *198*, 268-273

11. Augustin Caceres. What's Riceberry? What's Rice Berry? What's Red Rice?. [online] **2016**. <https://legroupindustries.com/whats-riceberry-whats-rice-berry-whats-red-rice> (accessed April 19, 2018).
12. Acaceli, C. O.; Ma, D. L. P. H.; Ma, E. P. H.; Jose, A. R.; Carlos, A. G. V., Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food chemistry*, **2009**, *113*, 859-871.
13. Rindlav-Westling, A.; Gatenholm, P. Surface composition and morphology of starch, amylose, and amylopectin films. *Biomacromolecules*, **2003**, *4*, 166-172
14. Gupta, B. D.; Sharma, S. A long-range fiber optic pH sensor prepared by dye doped sol-gel immobilization technique. *Optics Communications*, **1998**, *154*, 282-284
15. Maciel, V. B.; Yoshida, C. M.; Franco, T. T. Chitosan/pectin polyelectrolyte complex as a pH indicator. *Carbohydrate Polymers*, **2015**, *132*, 537-545.
16. Pokdee, W.; Kumar, N.; Chaiwut, P.; Sripisut, T. DEVELOPMENT OF RICEBERRY EXTRACT FOR ANTIOXIDANT ACTIVITY. School of Cosmetic Science, Mae Fah Luang University, Chiang Rai, **2016**, 139-146.
17. Thao, L. T.; Thoa, D. T. K.; Thang, L.P.; Xi, T. T.U.; Mai, D. S.; T., N. T.N. Effect of ethanol on the anthocyanin extraction from the purple rice of Vietnam. *Journal of Food and Nutrition Science*, **2015**, *3*, 45-48
18. Giusti, M. M.; Wroistad, R. E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, **2001**, *F1.2*, 1-13
19. Ivanič, F.; Mošková, D. J.; Janigová, I.; Chaodák, I. Physical properties of starch plasticizer by mixture of plasticizer. *European Polymer Journal*, **2017**, 843-849.
20. Yoshida, C. M. P.; Maciel, V. B. V.; Mendonca, M. E. D.; Franco, T. T. Chitosan biobased and intelligent films: Monitoring pH variations. *LWT-Food Science and Technology*, **2014**, *55*, 83-89.
21. Holcroft, D. M.; Kader, A. A. Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of colored strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, **1999**, *17* 19-32.
22. Capron, I; Robert, P.; Colonna, P.; Brogly, M. Planchot, V. Starch in rubbery and glassy states by FTIR spectroscopy. *Carbohydrate polymer*, **2007**, *68* 249-259.

23. บุญรักษ์ กาญจนวรวณิชย์, ศูนย์เทคโนโลยีโลหะแห่งชาติ, “สารระนำรู้ : อีฐกัันตะไคร้จากเทคโนโลยีเลียนแบบธรรมชาติ [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: <https://www.mtec.or.th/academic-services/mtec-knowledge/919> [26 เมษายน 2561].
24. ฤทัยรัตน์ อุตครุฑ, กระจกทำความสะอาดตัวเองด้วยวิธีการ"ไม่ชอบน้ำ" [ออนไลน์] เข้าถึงจาก: <http://www.ruethairat007.blogspot.com> [23 พฤษภาคม 2561]
25. Morillon, V.; Debeaufort, F.; Capelle, M.; Blond, G. Voilley, A. Influence of the physical state of water on Barrier Properties of Hydrophobic and Hydrophobic Film. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2000**, *48*, 11-16.
26. Borges, J. A.; Romani, V. P.; Cortez-Vega, W. R.; Martins, V.G. Influence of different starch source and plasticizers on properties of biodegradable film. *International Food Research Journal*, **2015**, *22*, 2346-2351.



ประวัติผู้วิจัย

นางสาวเฉลิมพร มหาดีลครัตน์ เกิดเมื่อวันที่ 20 เดือนมีนาคม พ.ศ. 2538 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษา
ชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียน มัธยมสาธิตมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา จังหวัด
กรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2557 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะ
วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2557 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 39
ซอยบางแวก 67 แยก 3 แขวงบางแวก เขตภาษีเจริญ กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10160 อีเมล
c.mahadilokrat@gmail.com

