

mL of betacyanin solution was coated on 10 grams of filter paper No.1 with 0.5 cm. in diameter for 10 minutes. Then the filter papers coated with betacyanin solution were left in the dark until they dried out, and Paper-Betacyanin was obtained. This product was applied for the determination of Cu^{2+} in water samples by only dropping 1 piece of Paper-Betacyanin in a mixture of 250 μL of pH 7 buffer solution and 100 μL of water sample. The tested solution was found to change from pink to old rose color. The detection limit was found at 30 μM . This developed method also determined Cu^{2+} in semiquantitative analysis, which was divided into 3 color shades depending on Cu^{2+} concentrations. Moreover, maximum lifespan of Paper-Betacyanin kept in dark and dry containers was more than 60 days.

Keywords: betacyanin; copper ion; naked-eye detection; white dragon fruit peel

1. บทนำ

ปัจจุบันน้ำเสียมีการปนเปื้อนของโลหะหนักอยู่หลายชนิด ได้แก่ ตะกั่ว (Pb) ทองแดง (Cu) พรอท (Hg) สารหนู (As) แคดเมียม (Cd) เป็นต้น โลหะหนักเหล่านี้หากเข้าสู่ร่างกายของมนุษย์ในปริมาณมาก ๆ ก็จะมีผลทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้แก่ โรคมะเร็ง โรคหัวใจ โรคตับ โรคกล้ามเนื้อและกระดูก เป็นต้น

การตรวจวัดโลหะหนักในน้ำนั้น ปัจจุบันสามารถตรวจวัดด้วยเครื่องมือที่ทันสมัย ได้แก่ inductively coupled plasma (ICP), UV-visible spectrophotometer, atomic absorption spectrophotometer (AAS) เป็นต้น โดยเครื่องมือเหล่านี้เป็นเครื่องมือชั้นสูงซึ่งให้ความแม่นยำสูง ต้องอาศัยผู้ที่มีความเชี่ยวชาญและมีทักษะการใช้เครื่องมือ อีกทั้งยังเป็นเครื่องมือที่มีราคาสูงและใช้เวลานานในการวิเคราะห์ นอกจากนี้ยังมีการวัดทางสเปกโตรสโกปี วัดความเข้มสีของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างรีเอเจนต์กับไอออนโลหะ ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย ใช้สะดวก สามารถตรวจวัดในสถานที่จริง ซึ่งรีเอเจนต์ที่มีใช้ในปัจจุบันต้องมีการสังเคราะห์ มีราคาแพง และอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในอนาคต มีรายงานการใช้รีเอเจนต์จากพืชตรวจวัดโลหะได้บางชนิด ซึ่งประหยัดและปลอดภัย

แต่ยังมีข้อด้อยบางประการ ได้แก่ อายุการใช้งาน ชีตจำกัดการวัด เป็นต้น นอกจากนี้การตรวจวัดสารตัวอย่างในตัวอย่างที่เป็นน้ำหากมีการใช้วัสดุของแข็งรองรับ (solid sensor) เป็นการมองการเปลี่ยนแปลงบนเฟสของแข็งก็จะทำให้การตรวจวัดสะดวกมากยิ่งขึ้น

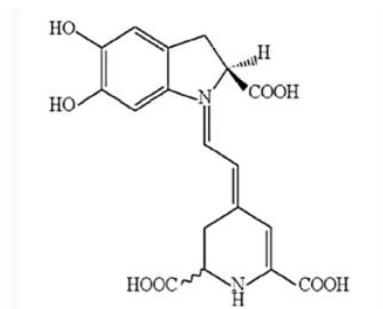


Figure 1 Betacyanin structure

เบตาไซยานิน (betacyanin) พบครั้งแรกในบีทรูท (*Beta vulgaris* L.) เป็นสารจำพวกบีตาเลน ซึ่งเป็นรงควัตถุให้สีที่พบในพืชบางชนิด พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ ละลายน้ำได้ดี แบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ เบตาไซยานิน (betacyanin) และเบตาแซนทิน (betaxanthin) ที่ให้สีเหลืองส้ม เบตาไซยานินที่ให้สีแดงถึงม่วงดูดกสีแสงในช่วงความยาวคลื่น 535-540

นาโนเมตร ซึ่งที่พบบ่อยมี 4 ชนิด ได้แก่ เบตานิิน (betanin) บูเจนวิลลีน (bougainvillein) กอมพรีนิน (gomphrenin) และอะมารานทิน (amaranthin) เบตาไซยานินมักเกิดขึ้นร่วมกับเบตาแซนทิน เช่นเดียวกับแอนโทไซยานินอยู่ร่วมกับฟลาโวนอยด์ [1] โดยโครงสร้างพื้นฐานของเบตาไซยานินแสดงดังรูปที่ 1

ปัจจัยที่มีผลต่อสีของเบตาไซยานิน

1.1 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีผลต่อความคงตัวของเบตาไซยานินจากสารสกัดของเปลือกแก้วมังกร การให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงทำให้ความคงตัวของเบตาไซยานินลดลง [2]

1.2 ความร้อน มีผลกระทบต่อสีของเบตาไซยานินโดยตรง เมื่อให้ความร้อนกับเบตาไซยานินจะทำให้โครงสร้างของเบตาไซยานินเปลี่ยนแปลงด้วยปฏิกิริยา isomerization, deglycosylation, decarboxylation และ hydrolysis ทำให้เกิดสารใหม่ขึ้นและการเปลี่ยนแปลงสี เริ่มจากการที่เบตาไซยานินเกิดการสลายตัวเป็นกรด betalamic ที่ให้สีเหลือง กับ cyclo-DOPA-glucoside ที่ไม่มีสี ซึ่งกรด betalamic และ cyclo-DOPA-glucoside สามารถจะกลับมารวมตัวกันเป็นเบตาไซยานินในสภาวะที่ปราศจากออกซิเจน [3] อย่างไรก็ตาม กรด betalamic และ cyclo-DOPA-glucoside เป็นสารที่ไม่เสถียร สามารถเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่อง เช่น oxidation และ maillard ทำให้เกิดสารสีน้ำตาลได้ [4]

1.3 โลหะไอออนบวกบางชนิด ได้แก่ เหล็ก ทองแดง ดีบุก และอะลูมิเนียม สารเหล่านี้สามารถเร่งปฏิกิริยาการทำลายโครงสร้างของเบตานิิน [5] โลหะหนักกับปรอทสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อน ซึ่งจะทำให้มีการดูดกลืนแสงเลื่อนไปทางความยาว bathochromic shift (λ_{max} เพิ่มขึ้น) และจะทำให้การดูดกลืนแสงของสารลดลง (ϵ_{max} ลด)

แก้วมังกร (dragon fruit หรือ pitahaya) เป็น

เป็นพืชตระกูลแคคตัส (Cactus) ซึ่งเป็นสกุลหนึ่งของตะบอกเพชร [6] ถิ่นกำเนิดของแก้วมังกรอยู่ในทวีปอเมริกากลาง โดยแก้วมังกรประกอบด้วยพันธุ์เนื้อขาวเปลือกแดง (*Hylocereus undatus* (Haw) Brit. & Rose) พันธุ์เนื้อขาวเปลือกเหลือง [*Hylocereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer) พันธุ์เนื้อแดงเปลือกแดง [*Hylocereus costaricensis* (F.A.C. Weber) Britton & Rose] หรือพันธุ์คอสตาริกา ดอกของแก้วมังกรมีสีขาวและมีขนาดใหญ่ ผลของแก้วมังกรมีลักษณะเป็นทรงกลมรี มีสีของเปลือกตอนดิบเป็นสีเขียว เมื่อตอนสุกจะมีสีแดงหรือสีบานเย็น บริเวณเนื้อของแก้วมังกรมีเมล็ดสีดำคล้าย ๆ เมล็ดงา เปลือกแก้วมังกรสีขาวจะมีริ้วสีเขียวกระจายอยู่บนเปลือกสีแดงชมพู (รูปที่ 2) เปลือกมีสีชมพูจะหนา อุ่นน้ำ มีรังควันทำให้สารสีแดงที่อยู่ในกลุ่มของสารกลุ่ม betalains ประเภทเบตาไซยานิน จัดเป็นอนุพันธ์ของกรด betalamic [7-9]



Figure 2 Peels of white dragon fruit

สำหรับกระดาษกรองที่ใช้ในห้องปฏิบัติการก็มีมากมายหลายแบบ แบบจำเพาะกับงาน และแบบที่ใช้ทั่วไป กระดาษกรองสามารถนำมาปรับสมบัติด้วยสารเคมีต่าง ๆ เพื่อใช้สำหรับการตรวจวัดความเป็นกรด-เบส (pH) ตรวจการตั้งครก หรือตรวจเบาหวานได้อีกด้วย [10]

ทองแดง (copper, Cu) เป็นโลหะชนิดหนึ่งที่ถูกนำมาใช้มากที่สุด เพราะมีสมบัติที่เป็นประโยชน์

หลายประการ เช่น สมบัติการนำไฟฟ้าและความร้อนดีเยี่ยม ทนต่อการผุกร่อน แข็งแรง ดึงเป็นเส้นและตีเป็นแผ่นบาง ร่างกายของคนเราต้องการทองแดงในปริมาณเล็กน้อย (trace element) ในผู้ใหญ่ต้องการทองแดง 2 มิลลิกรัมต่อวัน ทองแดงจำเป็นสำหรับกระบวนการเผาผลาญอาหาร (metabolism) และร่างกายของคนเรามีทองแดง 100-150 mg ซึ่งมีความเข้มข้นสูงสุดอยู่ที่ตับ กระจก และเลือด นอกจากนี้การสังเคราะห์เฮโมโกลบินหลายชนิดต้องอาศัยทองแดงด้วย ดังนั้นจะเห็นได้ว่าทองแดงในปริมาณเล็กน้อยไม่เพียงแต่ไม่เป็นพิษและยังเป็นสิ่งที่ร่างกายต้องการอีกด้วย แต่ถ้ามีในปริมาณที่สูงเกินไปก็จะเป็นพิษได้ ส่วนมากในสภาพที่เป็นพิษจะพบในรูปไอและเกลือของทองแดง เนื่องจากการหลอมโลหะ [11]

ชุดทดสอบอย่างง่าย (test kit) นิยมใช้เพื่อทดสอบเบื้องต้นสำหรับคัดกรองตัวอย่าง ก่อนที่จะนำไปทดสอบอย่างละเอียดด้วยเครื่องมือที่มีความเที่ยงตรงและแม่นยำสูงในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ได้ผลถูกต้องมากขึ้น ชุดทดสอบอย่างง่ายมีข้อดีหลายอย่าง คือ การทดสอบทำได้ง่าย ประหยัดเวลา ต้นทุนต่ำ และไม่ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการลงมือทดสอบ ซึ่งผลการทดสอบน่าเชื่อถือ หลักการของชุดทดสอบอย่างง่ายส่วนใหญ่อาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารเป้าหมายที่สนใจกับสารทดสอบที่มีความไวและจำเพาะต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารเป้าหมาย ทั้งนี้สารทดสอบมักถูกเคลือบหรือตรึงอยู่บนแผ่นทดสอบที่เป็นวัสดุรองรับหรืออาจอยู่ในรูปสารละลายก็ได้ เมื่อสารทดสอบทำปฏิกิริยากับสารเป้าหมายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่มองเห็นด้วยตาเปล่า เช่น สีเปลี่ยนไปจากเดิม หรือเกิดสารประกอบตัวใหม่หลังเกิดปฏิกิริยาเคมี หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงค่าทางไฟฟ้า นอกจากนี้ อาจมีการประกอบวงจรอย่างง่ายเข้าไปด้วยสำหรับแปรผลให้เป็นตัวเลขที่อ่านค่าได้โดยสะดวก [12]

วารางคณา และคณะ ได้ค้นคว้าและวิจัยเกี่ยวกับการตรวจจับโลหะหนักด้วยสารสกัดจากกะหล่ำปลีม่วง (กะหล่ำปลีแดง) โดยนำสาร cyanidin ซึ่งสกัดได้จากกะหล่ำปลีม่วงไปใช้ในการตรวจหาไอออนของ Cu^{2+} , Pb^{2+} , Al^{2+} และ Fe^{2+} แบบเห็นผลด้วยตาเปล่า ทั้งในเชิงคุณภาพวิเคราะห์และปริมาณวิเคราะห์ สารละลาย cyanidin ที่สกัดได้สามารถตรวจจับไอออนของโลหะหนักดังกล่าวโดยอาศัยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนและการเปลี่ยนสีตามสภาวะกรด-เบสแบบเห็นผลได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งผลการวิเคราะห์สามารถตรวจหาไอออนของ Cu^{2+} , Pb^{2+} , Al^{2+} และ Fe^{2+} ได้ต่ำสุดเป็น 50, 80, 50 และ 200 μM ตามลำดับ [13]

วารางคณา และคณะ ได้ศึกษาวิธีการตรวจวัดตะกั่วในน้ำด้วยตาเปล่าด้วยรีเอเจนต์ที่สกัดจากเปลือกแก้วมังกรสีชมพู พบว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสม ซึ่งรีเอเจนต์ที่สกัดได้จากเปลือกแก้วมังกรสีชมพู คือ เบตาไซยานิน เมื่อนำรีเอเจนต์ที่สกัดได้มาทดสอบการเกิดอันตรกิริยากับไอออนโลหะหลายชนิด ร่วมกับการศึกษาผลของ pH พบว่า Pb^{2+} ให้ผลการตอบสนองต่อการตรวจวัดด้วยตาเปล่าอย่างชัดเจนที่ pH 6 โดยความเข้มข้นต่ำสุดของ Pb^{2+} ที่รีเอเจนต์จากเปลือกแก้วมังกรสีชมพูทำได้ คือ 3×10^{-4} M เมื่อนำใช้กับน้ำตัวอย่างจริงเปรียบเทียบความถูกต้องกับเทคนิค AAS พบว่าผลการตรวจวัดมีความสอดคล้องกันเป็นอย่างดี [14]

จงดี และเพริศพิชญ์ ได้ศึกษาถึงวัสดุนาโนกับการพัฒนาเทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับ ซึ่งในรายงานได้รวบรวมการพัฒนาเทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับสำหรับการวิเคราะห์สารอินทรีย์ปริมาณน้อย ที่มีการประยุกต์ใช้วัสดุนาโนชนิดต่าง ๆ เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดหรือการแยกสารที่สนใจออกจากองค์ประกอบอื่น ๆ ในตัวอย่างและลดขั้นตอนที่ยุ่งยาก ทำให้สามารถสกัดสารที่สนใจได้ง่ายขึ้น เทคนิคการ

สกัดด้วยตัวดูดซับที่ได้รวบรวมไว้ในบทความนี้มี 4 เทคนิคด้วยกัน คือ การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (solid phase extraction) การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งที่กระจายตัวในตัวอย่าง (solid phase dispersion extraction) การสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อย (solid phase microextraction) และการสกัดด้วยแท่งแม่เหล็กดูดซับ (stir bar sorptive extraction) [15]

การศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องทำให้ทราบว่า สารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรสีขาวมีสารเบตาไซยานิน เป็นรงควัตถุ และสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรสีขาวสามารถใช้ตรวจวัดโลหะหนักในน้ำ โดยพบรายงานว่า เปลือกแก้วมังกรมีส่วนประกอบของเบตาไซยานิน ซึ่งเป็นสารให้สี สามารถสกัดได้ง่ายด้วยตัวทำละลาย และเพิ่มความบริสุทธิ์ให้กับสารสกัดได้โดยการใช้วัสดุของแข็งรองรับ ดังนั้นจึงมีแนวคิดในการนำวัสดุของแข็งรองรับมาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัด Cu^{2+} ในน้ำด้วยตาเปล่า โดยดัดแปรพื้นผิวสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรสีขาวให้ง่ายขึ้นและเป็นการตรวจวัดเบื้องต้น เพื่อเป็นแนวทางสำหรับการตรวจวัดอย่างละเอียดด้วยเครื่องมือขั้นสูงในห้องปฏิบัติการต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้ คือ ศึกษาการใช้สารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรสีขาวดัดแปรบนกระดาษกรองเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจวัดไอออนทองแดงในน้ำด้วยตาเปล่า

2. ขั้นตอนการดำเนินงาน

2.1 เครื่องมือและสารเคมี

2.1.1 เครื่องมือ

(1) เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer: Shimadzu UV-1601, Japan)

(2) เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปก

โตรโฟโตมิเตอร์ (atomic absorption spectrophotometer, AAS: Shimadzu AA 6200, Japan)

2.1.2 สารเคมี

(1) copper (II) nitrate, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Assay 98 %, AR, MW = 241.6 (QRëC™, New Zealand)

(2) sodium acetate, CH_3COONa , Assay 100.51 %, AR, MW = 136.08 (QRëC™, New Zealand)

(3) sodium dihydrogen phosphate, Assay $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 99 %, AR, MW = 156.01 (Riedel-de Haen AG, Germany)

(4) disodium hydrogen phosphate, Na_2HPO_4 , Assay 99 %, AR, MW = 141.96 (Merk, Germany)

(5) ethanol, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, Assay 95 %, Commercial, $D = 0.789 \text{ g/cm}^3$, MW = 46.07 (RCI Labscan Ltd., Thailand)

(6) acetic acid, CH_3COOH , Assay 99.7 %, AR, MW = 60.05, $D = 1.05 \text{ g/cm}^3$, RCI Labscan Ltd., Thailand)

2.2 สกัดสารสีจากเปลือกแก้วมังกรสีขาว

(1) นำเปลือกแก้วมังกรขาวสดมาทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น

(2) หั่นเปลือกแก้วมังกรขาวเป็นชิ้นเล็ก ๆ ปริมาณ 400 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร แช่ไว้ในที่มืดเป็นเวลา 72 ชั่วโมง กรองและเก็บสารสกัดในขวดสีชา เก็บในตู้เย็น [14]

(3) ตรวจสอบลักษณะเบื้องต้นของสารสกัดด้วยเทคนิค ยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตเมทรี

2.3 การทดสอบอันตรกิริยาของสารสกัดกับไอออนโลหะ

2.3.1 ใส่สารละลายบัฟเฟอร์ pH 3-7 ที่มี

ความเข้มข้น 0.1 M ลงในภาดหลุมพลาสติกหลุมละ 500 ไมโครลิตร

2.3.2 หยดสารละลายโลหะแต่ละชนิด (Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Cr^{3+} และ Zn^{2+}) ความเข้มข้น 0.01 M ปริมาตร 1 หยด ลงในภาดหลุมที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ในข้อ 1 (ส่วน blank ให้ใช้น้ำกลั่น ปริมาตร 1 หยด แทนสารละลายโลหะ)

2.3.3 หยดสารสกัดที่ได้จากเปลือกแก้วมังกรขาว 1 หยด ลงในภาดหลุมที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ในข้อ 1 และสารละลายโลหะในข้อ 2

2.3.4 สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรขาว

2.4 ทาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต Paper-Betacyanin

2.4.1 เตรียมกระดาษกรอง

นำกระดาษกรองเบอร์ 1 มาล้างด้วยน้ำกลั่นและอบให้แห้ง นำมาตัดด้วยเครื่องเจาะกระดาษ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร

2.4.2 หาความเข้มข้นของสารสกัดที่เหมาะสมในการการผลิต Paper-Betacyanin

(1) เตรียมสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรสีขา 3 ความเข้มข้น ความเข้มข้นของเบตาไซยานินในการทดลองนี้ควบคุมด้วยค่าการดูดกลืนแสงจากเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 536 นาโนเมตร ซึ่งนำสารละลายเบตาไซยานินเริ่มต้นที่ต้องการเคลือบมาเจือจางให้ทราบจำนวนเท่าของการเจือจางและให้ค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.9

(2) นำกระดาษกรองที่ตัดและทำความสะอาดแล้ว 10 กรัม ไปแช่ลงในสารสกัดเริ่มต้นทั้ง 3 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 20 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 นาที ในที่มืด จากนั้นนำมาตากให้แห้งบนกระดาษนาฬิกา จะได้ Paper-Betacyanin No.1, No.2 และ No.3

2.4.3 การตรวจวัดไอออนทองแดงในน้ำโดยใช้ Paper-Betacyanin

(1) ใส่สารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่มีความเข้มข้น 0.01 M ลงในภาดหลุมพลาสติกสีขา จำนวน 20 หลุม ปริมาตรหลุมละ 250 ไมโครลิตร

(2) หลุมที่ 2-20 เติมสารละลาย Cu^{2+} ที่มีความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 และ 1,000 μM ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตามลำดับ ให้หลุมที่ 1 เป็นสารละลาย blank

(3) ใส่ Paper-Betacyanin No.1 ลงไปในภาดหลุมแต่ละหลุม หลุมละ 1 แผ่น

(4) สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีในแต่ละหลุมเมื่อเวลาผ่านไป 1 นาที เปรียบเทียบกับสารละลายในหลุมที่ 1

(5) ทำซ้ำเดิม แต่เปลี่ยนเป็น Paper-Betacyanin No.2 และ Paper-Betacyanin No.3

2.4.4 วิเคราะห์โลหะหนักแบบ semi-quantitative analysis

(1) ใส่สารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่มีความเข้มข้น 0.01 M ลงในภาดหลุมพลาสติกสีขา จำนวน 20 หลุม ปริมาตรหลุมละ 250 ไมโครลิตร

(2) หลุมที่ 2-20 เติมสารละลาย Cu^{2+} ที่มีความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 และ 1,000 μM ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตามลำดับ ให้หลุมที่ 1 เป็นสารละลาย blank

(3) ใส่ Paper-Betacyanin No.1 ลงไปในภาดหลุมแต่ละหลุม หลุมละ 1 แผ่น

(4) สังเกตสีของสารละลายที่เปลี่ยนไปในแต่ละความเข้มข้นของ Cu^{2+} แล้วกำหนดสีที่เหมือนหรือคล้ายกันในแต่ละช่วงของความเข้มข้น

(5) ทำซ้ำเดิมแต่เปลี่ยนเป็น Paper-

Betacyanin No.2 และ Paper-Betacyanin No.3

2.5 ประยุกต์วิธีกับน้ำตัวอย่าง

2.5.1 การหาความเข้มข้นของ Cu^{2+} ในน้ำตัวอย่างที่เตรียมขึ้นด้วยเทคนิค AAS

(1) เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cu^{2+} ที่มีความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 ppm แล้วนำสารละลายมาตรฐานไปสร้างกราฟมาตรฐานด้วยเทคนิค AAS

(2) หาความเข้มข้นของน้ำตัวอย่างทั้ง 3 ความเข้มข้นด้วยเทคนิค AAS

2.5.2 การหาความเข้มข้นของ Cu^{2+} ในน้ำตัวอย่างที่เตรียมขึ้นด้วย Paper-Betacyanin

(1) ชุดควบคุม

(1.1) ใส่สารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่มีความเข้มข้น 0.01 M ลงในภาตหลุมพลาสติกสีขาว จำนวน 20 หลุม ปริมาตรหลุมละ 250 ไมโครลิตร

(1.2) หลุมที่ 2-20 เติมสารละลาย Cu^{2+} ที่มีความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 และ 1,000 μM ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตามลำดับ โดยให้หลุมที่ 1 เป็นสารละลาย blank

(1.3) ใส่ Paper-Betacyanin No.2 ลงไปในภาตหลุมแต่ละหลุม หลุมละ 1 แผ่น

(2) ชุดทดลอง

(2.1) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่มีความเข้มข้น 0.01 M ลงในภาตหลุมพลาสติกสีขาว จำนวน 3 หลุม หลุมละ 250 ไมโครลิตร

(2.2) เติมสารละลาย Cu^{2+} 3 ความเข้มข้น ที่เตรียมไว้ ลงในแต่ละหลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร

(2.3) ใส่ Paper-Betacyanin No.2 ลงไปในภาตหลุมแต่ละหลุม หลุมละ 1 แผ่น

(2.4) ให้ผู้ทดสอบ 10 คน สังเกตการ

เปลี่ยนแปลงสีด้วยตาเปล่าแล้วระบุสีที่สังเกตได้อยู่ในช่วงสีใดเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายในชุดควบคุม

2.6 ทดสอบความคงทนของ Paper-Betacyanin

2.6.1 ใส่สารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ที่มีความเข้มข้น 0.01 M ลงในภาตหลุมพลาสติกสีขาว จำนวน 20 หลุม หลุมละ 250 ไมโครลิตร

2.6.2 หลุมที่ 2-20 เติมสารละลาย Cu^{2+} ที่มีความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 และ 1,000 μM ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตามลำดับ ให้หลุมที่ 1 เป็นสารละลาย blank

2.6.3 ใส่ Paper-Betacyanin No.2 ลงไปในภาตหลุมแต่ละหลุม หลุมละ 1 แผ่น

2.6.4 สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีเมื่อเวลาผ่านไป 1 นาที ในแต่ละหลุมเปรียบเทียบกับสารละลายในหลุมที่ 1

2.6.5 ทำซ้ำข้อ 1-4 โดยทดสอบทุก ๆ 15 วัน จนครบ 60 วัน

3. ผลการวิจัยและการอภิปราย

3.1 การสกัดและทดสอบคุณลักษณะเบื้องต้นของสารสกัด

เมื่อนำสารสกัดเปลือกแก้วมังกรสีขาวยุติสกัดได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่ามีค่าความยาวคลื่นสูงสุดในช่วงวิสิเบิลที่ 536 nm (รูปที่ 3) ซึ่งเป็นไปตามการทดลองของ วรวงศ์ และคณะ ที่รายงานการศึกษาสารสกัดจากแก้วมังกรสีขาวยุติ และมีลักษณะสเปกตรัมและสมบัติทางแสงเช่นเดียวกับการรายงานของ Nilsson [1,14]

การศึกษาพบว่าหลายงานวิจัยกล่าววว่า ไอออนโลหะบางชนิดสามารถเร่งปฏิกิริยาการทำลาย

โครงสร้างของเบตาไซยานิน นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า มีสารละลายไอออนโลหะกับรงควัตถุสามารถเกิดเป็น สารประกอบเชิงซ้อนและทำให้ค่าความยาวคลื่นสูงสุด เพิ่มขึ้นเช่นกัน [5,16,17]

3.2 การเกิดอันตรกิริยาของสารสกัดกับ ไอออนโลหะ

การเติมสารสกัดลงในลงในสารละลาย ผสมของบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M กับไอออนโลหะเข้มข้น

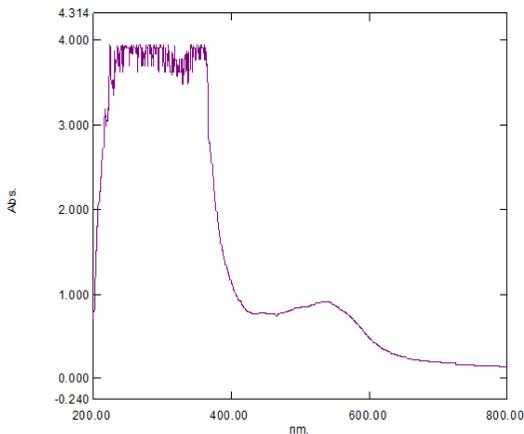


Figure 3 Maximum absorption wavelength of the extract from white dragon fruit peel

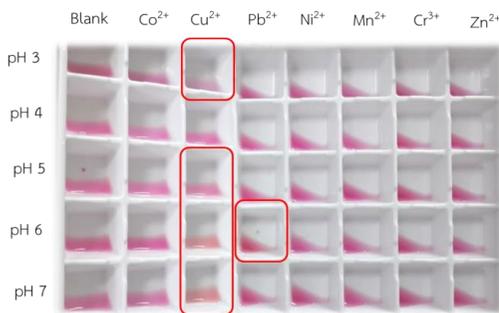


Figure 4 Interaction of reagent extracted from white dragon fruit peels and metal ions (Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Cr^{3+} , and Zn^{2+})

0.01 M พบว่าสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรขาว สามารถเกิดอันตรกิริยากับ Cu^{2+} ในสารละลาย บัฟเฟอร์ pH 3 และ pH 5-7 โดยจะเปลี่ยนสีจากสี ชมพูเข้มเป็นสีชมพูอ่อนและสีส้ม นอกจากนี้สารสกัด จากเปลือกแก้วมังกรขาวสามารถเกิดอันตรกิริยากับ Pb^{2+} ที่สารละลายบัฟเฟอร์ pH 6 โดยเปลี่ยนสีจากสี ชมพูเข้มเป็นสีแดง (รูปที่ 4)

มีรายงานว่า การเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดขึ้นเนื่องจากไอออนโลหะบางชนิดสามารถเร่ง ปฏิกิริยาการทำลายโครงสร้างของเบตาไซยานิน นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่า มีสารละลายไอออนโลหะกับรงควัตถุ สามารถเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนและทำให้เกิด การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงขึ้น จะเห็นได้ว่าสาร สกัดจากเปลือกแก้วมังกรขาวสามารถตรวจวัดไอออน ทองแดงที่ pH 5-7 และไอออนตะกั่วตรวจวัดได้ที่ pH 6 อย่างไรก็ตาม การตรวจวัดไอออนทองแดงที่ pH 6 จะเกิดการรบกวนจากไอออนตะกั่ว และเมื่อพิจารณา การตรวจวัดไอออนทองแดงที่ pH 3, 5 และ 7 พบว่าที่ pH 7 เห็นการเปลี่ยนแปลงสีชัดเจนที่สุด จึงตรวจวัด ไอออนทองแดงในสารละลายที่มี pH 7 ต่อไป

3.3 การเตรียม Paper-Betacyanin

เพื่อรักษาสภาพของสารสกัด โดยนำ กระดาษกรองมาใช้เป็นวัสดุดูดซับสารสกัด อีกทั้งยัง ทำให้สารสกัดมีความบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น จึงทำให้สาร สกัดมีอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้น สามารถใช้งาน ง่ายและสะดวกในการเก็บรักษา

ขั้นตอนการผลิต Paper-Betacyanin เริ่ม จากการเตรียมกระดาษกรอง โดยนำกระดาษกรอง เบอร์ 1 ยี่ห้อ Whatman[®] มาล้างให้สะอาดด้วยน้ำ กลั่น แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนแห้ง จากนั้นเจาะกระดาษกรองให้ได้ตามขนาดเส้น ผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ด้วยที่เจาะกระดาษ แล้วนำกระดาษที่เจาะไปแช่ในสารสกัดให้ครบ 10

นาที่ แล้วนำกระดาษกรองที่อ้อมตัวด้วยสารสกัดขึ้นมาตากบนกระดาษฟีกา ตากจนกระดาษกรองที่อ้อมตัวด้วยสารสกัดแห้งสนิท จะได้ Paper-Betacyanin ที่ใช้เป็นตัวตรวจวัดไอออนทองแดงต่อไป เก็บรักษา Paper-Betacyanin ไว้ในที่มืดและแห้ง ทำโดยเก็บไว้ในถุงซิปล็อคเพื่อไม่ให้โดนอากาศและห่อหุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์เพื่อป้องกันแสงแดด (รูปที่ 5) เพราะอากาศและแสงแดดสามารถเกิดปฏิกิริยา oxidation กับสารสกัด ซึ่งจะทำให้ Paper-Betacyanin สูญเสียประสิทธิภาพได้

3.4 การหาความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกแก้วมังกรขาวที่เหมาะสมในการผลิต Paper-Betacyanin

หลังจากทดสอบคุณลักษณะเบื้องต้นของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ทำให้ทราบว่าสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร คือ เบตาไซยานิน แต่ในการสกัดสารจากเปลือกแก้วมังกรสีขาวแต่ละครั้งจะได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นของสารสกัดไม่เท่ากัน สังเกตได้จากสีของสารสกัด ดังนั้นเพื่อหาความเข้มข้นของสารสกัดที่เหมาะสมที่สุดในการใช้ผลิต Paper-Betacyanin จึงเลือกเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีมาใช้เพื่อ

ระบุค่าความเข้มข้นของสารสกัดเริ่มต้นที่เหมาะสมในการนำมาเคลือบบนกระดาษกรอง โดยกำหนดให้สารสกัดเริ่มต้นแต่ละความเข้มข้นเมื่อเจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออนแล้วมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 536 นาโนเมตร ประมาณ 0.9

ตารางที่ 1 จะเห็นว่า Paper-Betacyanin ชุดที่ 1 มีสีเข้มมากที่สุดเพราะเจือจางถึง 15 เท่า ส่วน Paper-Betacyanin ชุดที่ 2 และ 3 มีความเข้มสีรองลงมา เพราะเจือจางเพียง 7 และ 5 เท่า ตามลำดับ



Figure 5 Storage of Paper-Betacyanin in air tight bag (a) storage of Paper-Betacyanin in air tight bag covered with aluminum foil (b)

Table 1 Optimum concentration of reagent extracted from with dragon fruit peels

Paper-Betacyanin	Dilution factors of reagent for producing of Paper-Betacyanin	Lowest Concentration of Cu ²⁺ detection (µM)
No. 1	15 folds (Abs = 0.9235)	80
No. 2	7 folds (Abs = 0.9347)	30
No. 3	5 folds (Abs = 0.9276)	60



Figure 6 Semiquantitative analysis of Cu²⁺ by naked-eye detection

Table 2 Color changes of Paper-Betacyanin in different Cu^{2+} concentrations

Cu^{2+} concentrations	Colors of solution	Cu^{2+} concentrations
< 30 μM	pink	< 30 μM
30-100 μM	light pink	30-100 μM

ลำดับ เมื่อได้ Paper-Betacyanin ทั้ง 3 No. แล้วจึงนำมาทดสอบโดยการตรวจวัด Cu^{2+} ในน้ำ โดยใช้น้ำตัวอย่างที่สังเคราะห์ขึ้น จากนั้นสังเกตผลการทดสอบด้วยตาเปล่า การทดสอบทำได้โดยใช้บัฟเฟอร์ pH 7 ความเข้มข้น 0.01 M ปริมาตร 250 ไมโครลิตร น้ำตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร และ Paper-Betacyanin 1 แผ่น ผลการทดสอบการตรวจวัด Cu^{2+} โดยใช้ Paper-Betacyanin No. 1, 2 และ 3 ได้ระดับความเข้มข้นต่ำสุด คือ 80, 30 และ 60 μM ตามลำดับ ซึ่ง Paper-Betacyanin No. 2 มีประสิทธิภาพในการตรวจวัดหา Cu^{2+} ในน้ำได้ต่ำที่สุด

3.5 การวิเคราะห์ Cu^{2+} ในน้ำด้วยตาเปล่าแบบ semiquantitative analysis

การทดสอบ Paper-Betacyanin ทั้ง 3 ชุดกับ Cu^{2+} ในน้ำตัวอย่าง ผลปรากฏว่า Paper-Betacyanin No. 2 มีประสิทธิภาพในการตรวจวัด Cu^{2+} ในน้ำด้วยตาเปล่าที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ความเข้มข้น 30 μM เมื่อวิเคราะห์ Cu^{2+} ในน้ำตัวอย่างแบบ semiquantitative analysis โดยใช้ Paper-Betacyanin No. 2 ได้ผลการวิเคราะห์แบ่งเป็นช่วงสี 3 ช่วง คือ สีชมพูเข้ม สีชมพูจาง และสีโอลด์โรส ซึ่งแบ่งเป็นช่วงความเข้มข้น คือ น้อยกว่า 30, 30-100 และมากกว่า 100 μM ตามลำดับ (รูปที่ 6) ซึ่งสรุปได้ดังตารางที่ 2

3.6 การประยุกต์วิธีกับน้ำตัวอย่าง

การวิจัยของ วรางคณา และคณะ ที่ได้

ทดสอบการตรวจวัดไอออนทองแดงโดยใช้สารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรขาวเช่นกัน โดยใช้ในรูปแบบสารละลาย ซึ่งได้ศึกษาเกี่ยวกับตัวรบกวน พบว่าการตรวจวัดดังกล่าวไม่มีผลรบกวนจากไอออนทั้งที่เป็นแคตไอออน (Cd^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cr^{3+} , Al^{3+} , Fe^{3+} และ Pb^{2+}) และแอนไอออน (NO_3^- , SO_4^{2-} , และ Cl^-) [14] เพื่อเป็นการยืนยันว่าผลการทดสอบการใช้ Paper-Betacyanin มีความถูกต้องและแม่นยำ จึงตรวจสอบความถูกต้องของการตรวจวัดจริงในน้ำตัวอย่างที่เตรียมขึ้น 3 ความเข้มข้น กับกลุ่มตัวอย่าง 10 คน คนละ 1 ความเข้มข้น เปรียบเทียบความถูกต้องกับเครื่องมือชั้นสูง คือ เทคนิค AAS ปรากฏว่าการตรวจวัดไอออนทองแดงในน้ำตัวอย่างที่เตรียมขึ้นโดยใช้ Paper-Betacyanin ได้ความเข้มข้นสอดคล้องกับความเข้มข้นที่วิเคราะห์จากเทคนิค AAS ทั้งยังสามารถระบุช่วงความเข้มข้นอย่างถูกต้องและสอดคล้องกับความเข้มข้นที่ได้จากเทคนิค AAS (ตารางที่ 3)

Table 3 The comparison of Cu^{2+} detection between naked-eye detection (Paper-Betacyanin) and AAS technique

Water samples	AAS technique	Naked-eye detection (Paper-Betacyanin)
1	20 μM	< 30 μM
2	300 μM	> 100 μM
3	1,000 μM	> 100 μM

3.7 การทดสอบความคงทนของ Paper-Betacyanin

แบ่งทดสอบ Paper-Betacyanin เป็นช่วงคือ 15 วันต่อครั้ง ทดสอบซ้ำจนกระทั่งครบ 60 วัน ผลการทดสอบ คือ สามารถตรวจวัด Cu^{2+} ในน้ำได้ในความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกัน แสดงในตารางที่ 4 ซึ่งการ

ทดสอบทำให้เห็นว่า Paper-Betacyanin ที่ผลิตขึ้นนี้สามารถใช้งานได้อย่างยาวนานอย่างน้อย 60 วัน

Table 4 Cu²⁺ determination of Paper-Betacyanin in various duration times

Durations	Lowest concentrations of Cu ²⁺
15 Days	30 µM
30 Days	20 µM
45 Days	30 µM
60 Days	30 µM

4. สรุปผลการวิจัย

เบตาไซยานินเป็นองค์ประกอบของสารให้สีที่สามารถสกัดได้จากเปลือกแก้วมังกรสีชมพู สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัด Cu²⁺ ในน้ำด้วยตาเปล่า งานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดที่สกัดได้มีอายุการใช้งานสั้น โดยไม่สามารถเก็บรักษาไว้นาน เพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพให้กับสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรสีชมพู จึงได้ศึกษาถึงวิธีการยืดอายุของสารสกัดโดยใช้วัสดุของแข็งรองรับสีชมพู คือ กระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 ตัดให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร น้ำหนัก 10 กรัม แขนงในสารสกัด 20 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำให้แห้งบนกระดาษฟิวส์ จะได้ Paper-Betacyanin ที่ใช้ในงานวิจัย ซึ่ง Paper-Betacyanin ที่ผลิตขึ้นจากสารสกัดเริ่มต้น No. 2 (หลังจากเจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออน 7 เท่า แล้วมีค่า absorbance ประมาณ 0.9) เป็นชุดตรวจวัดที่เหมาะสมสามารถตรวจวัด Cu²⁺ ในน้ำตัวอย่างได้โดยใช้อัตราส่วนของบัฟเฟอร์ pH 7 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำโลหะตัวอย่างที่ 100 ไมโครลิตร และใช้ Paper-Betacyanin เพียง 1 แผ่น เป็นเวลา 1 นาที ซึ่งผลการตรวจวัดสามารถวัด Cu²⁺ ในน้ำตัวอย่างได้ใน

ความเข้มข้นต่ำสุด คือ 30 µM โดยผลการทดสอบสามารถสังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำตัวอย่างจากสีชมพู เปลี่ยนเป็นสีโอลด์โรส ทั้งนี้ผู้วิจัยได้ทดสอบ Paper-Betacyanin แบบ semiquantitative analysis โดยสังเกตช่วงสี ซึ่งช่วงสีของการทดสอบ Cu²⁺ ได้ 3 ช่วงสี คือ สีชมพูเข้ม สีชมพูจาง และสีโอลด์โรส ซึ่งแปรผันตรงกับช่วงความเข้มข้น คือ น้อยกว่า 30, 30-100 และมากกว่า 100 µM ตามลำดับ และได้ทดสอบการใช้ Paper-Betacyanin โดยกลุ่มตัวอย่าง 10 คน ในการตรวจวัด Cu²⁺ และ Pb²⁺ ในน้ำ โดยใช้ตัวอย่างจากสารมาตรฐาน 3 ความเข้มข้น คือ 20, 300 และ 1,000 µM ซึ่งมีช่วงสีที่ต่างกัน (ชุดทดลอง) ผลปรากฏว่ากลุ่มตัวอย่างทั้ง 10 คน สามารถบอกให้ทราบว่าสารตัวอย่างที่ได้รับมีความเข้มข้นอยู่ในช่วงใดอย่างถูกต้องเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ทั้งนี้ได้ศึกษาถึงผลการเก็บรักษาและใช้งานของ Paper-Betacyanin โดยทดสอบทุก ๆ 15 วัน จนครบ 60 วัน ผลปรากฏว่า Paper-Betacyanin ที่ผลิตขึ้นมีอายุการใช้งานอย่างน้อย 60 วัน โดยทดสอบกับน้ำตัวอย่างสังเคราะห์ที่ใช้เป็นสารมาตรฐานกับเทคนิค AAS ผลการทดสอบพบว่ามีความสอดคล้องกัน

ทั้งนี้ Paper-Betacyanin มีข้อดี คือ ขั้นตอนการผลิตง่าย เก็บและรักษาได้สะดวก ตรวจสอบไอออนทองแดงในน้ำตัวอย่างได้ความเข้มข้นที่ต่ำ ใช้งานง่าย ผู้ใช้ไม่จำเป็นต้องมีความชำนาญสูง เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดสอบโดยเครื่องมือชั้นสูง อีกทั้งการทดสอบด้วย Paper-Betacyanin ยังไม่อันตรายกับผู้ทดสอบ เพราะเป็นสารสกัดจากธรรมชาติ และแก้วมังกรยังเป็นพืชที่หาง่าย ปลูกได้ทั่วไป ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพืชอีกด้วย

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ภาควิชาเคมี และศูนย์วิทยาศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏ
เชียงใหม่ สำหรับสารเคมี อุปกรณ์ทำปฏิบัติการ และ
เครื่องมือวิเคราะห์ขั้นสูง

6. References

- [1] Nilsson, T., 1970, Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *rubra*). Lantbrukshogskolans Annaler 36: 179-219.
- [2] Chaovanalikit, A., Techacheewapong, P. and Tungcharernkit, P., 2010, Stability of betacyanin from pitaya peel, Agric. Sci. J. 41(3/1)(Suppl.): 409-412. (in Thai)
- [3] Huang, S.A. and von Elbe, J.H., 1987, Effect of pH on the degradation and regeneration of betanin, J. Food Sci. 52: 1689-1693.
- [4] Reynoso, R., Garcia, F.A., Morales, D. and de Mejia, E.G., 1997, Stability of betalain pigments from a Cactacea fruit, J. Agric. Food Chem. 45: 2884-2889.
- [5] Pasch, J. H. and von Elbe, J. H., 1979, Betanine stability in buffered solutions containing organic acids, metal cations, antioxidants, or sequestrants, J. Food Sci. 44: 72-74.
- [6] Ngamsutta, J, Dragon Fruit: Valuable Fruit, Available Source: http://it.doa.go.th/pibai/pibai/n15/v_8-sep/rai.html, November 1, 2018. (in Thai)
- [7] Sornyotha K. and Anprung, P., 2009, Bioactive substance and stability of beta cyanin from red dragon fruit species, Agric. Sci. J. 40(1): 15-18. (in Thai)
- [8] Herbach, K.M., Rohe, M., Stintzing, F.C. and Carle, R., 2006a, Structural and chromatic stability of purple pitaya [*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose] betacyanins as affected by the juice matrix and selected additives, Food Res. Int. 39: 667-677.
- [9] Herbach, K.M., Stintzing, F.C. and Carle, R., 2006b, Betalain stability and degradation-structural and chromatic aspects, J. Food Sci. 71: R41-R50.
- [10] Glassware Chemical, Filter Paper, Available Source: <http://glasswarechemical.com/materials>, November 1, 2018. (in Thai)
- [11] Total Material, Copper Properties, Available Source: <https://www.totalmaterial.com/page.aspx?ID=CopperProperties&LN=EN>, November 1, 2018. (in Thai)
- [12] Danwittayakul, S., 2014, Know a simple test set, Available Source: <https://www.nstda.or.th/th/nstda-knowledge/1850-test-kit>, November 1, 2018. (in Thai)
- [13] Khaodee, W., Aeungmaitrepirom, W. and Tuntulani, T., 2014, Effectively simultaneous naked-eye detection of Cu(II), Pb(II), Al(III) and Fe(III) using cyanidin extracted from red cabbage as chelating agent, Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. 126: 98-104.
- [14] Khaodee, W., Wongkitti, R. and Madeang, S., 2017, Naked-eye detection of lead ion in water sample using reagent extracted

- from white dragon fruit peel, *KKU Sci. J.* 45(4): 886-895. (in Thai)
- [15] Thammakhetand, C. and Kanatharana, P., 2013, Nanomaterials for the development of sorbent based extraction techniques, *J. KMUTNB* 23(2): 513-524. (in Thai)
- [16] Janusz, C., 1990, Heat stability of beta cyanins in red beet juice and in betanin solutions, *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung.* 191: 275-278.
- [17] Sobkowska, E., Czapski, J. and Kaczmarek, R., 1991, Red table beet pigment as food colorant, *Int. Food Ingredients* 3: 24-28.