

## การใช้สารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกกล้วยไม้เป็นตัวตรวจวัด ความเป็นกรด-เบส ด้วยตาเปล่า

### The Anthocyanin Extract from Orchid Flower Used as an Acid-base Naked-eye Sensor.

สุกัญญา ทองขัน<sup>1</sup>, ขวัญณารีย์ ฤกษ์พันธ์<sup>1</sup>, สรินยา กำจกร<sup>1</sup>, สำคัญ ฮ่อบรรทัด<sup>2</sup>, ธัญพรรณน ฮ่อบรรทัด<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ บุรีรัมย์ 31000

<sup>2</sup>สาขาวิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ บุรีรัมย์ 31000

Sukanya Tongkhan<sup>1</sup>, Kwannaree Thookpan<sup>1</sup>, Sarinya Kumjorn<sup>1</sup>,  
Samkhan Hobunthad<sup>2</sup>, Thanyapan Hobanthad<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Chemistry Program, faculty of Science, Buriram Rajabhat University, Buriram 31000

<sup>2</sup>Mathematics Program, faculty of Science, Buriram Rajabhat University, Buriram 31000

Received 10 April 2023; Received in revised 15 September 2023; Accepted 28 September 2023

#### บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการสร้างตัวตรวจวัดความเป็นกรด-เบส โดยใช้สารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกกล้วยไม้ แอนโทไซยานินสามารถสกัดได้อย่างง่ายด้วยการใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดมีปริมาณไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์เท่ากับ  $7.91 \pm 0.72$  มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า pH ของสารสกัดเท่ากับ  $5.03 \pm 0.05$  ค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ  $2.69 \pm 0.63$  การทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 2.0-10.0 พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงสีจากแดงไปเขียว เมื่อทดสอบด้วยกรดไปเบสตามลำดับ และเมื่อนำสารสกัดไปสร้างเป็นตัวตรวจวัดได้โดยการชุปสารสกัดบนกระดาษเซลลูโลส ตัวตรวจวัดแบบกระดาษสามารถเปลี่ยนแปลงสีที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า เมื่อทดสอบกับสารละลายบัฟเฟอร์ pH 2.0-10.0 ให้ค่าความแตกต่างของสี (the total color different;  $\Delta E$ ) มากกว่า 5 นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการอ่านค่า pH ของสารละลายเทียบกับเครื่องพีเอชมิเตอร์ และกระดาษยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์ ให้ผลที่คล้ายคลึงกัน ดังนั้นการใช้สารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกกล้วยไม้สามารถนำมาสร้างเป็นตัวตรวจวัดความเป็นกรด-เบสได้

คำสำคัญ: แอนโทไซยานิน; ดอกกล้วยไม้; ตัวตรวจวัด; กรด-เบส

**Abstract**

In this research, an acid-base detector was created using anthocyanin extract from orchid flowers. The anthocyanin was easily extracted in an aqueous solution. The results indicate that the cyanidin-3-glucoside content of the extract was  $7.91 \pm 0.72$  mg/l. The pH of the extract was  $5.03 \pm 0.05$ . The total soluble solids were  $2.69 \pm 0.63$ . The color changed with pH 2.0-10.0 buffer solution showing a color change from red to green when tested from acid to base. The extract was assigned as a probe by impregnating it on cellulose paper. The paper detector can change the color for naked-eye detection. When tested with pH buffer solutions ranging from 2.0 to 10.0, the total color difference ( $\Delta E$ ) was greater than 5. Additionally, when comparing the pH of the solution from cellulose paper with the pH meter and universal indicator paper, similar results were obtained. Therefore, anthocyanin extracts from orchids can be used as a pH-base tester.

**Keywords:** Anthocyanin; Orchid flower; Sensor; Acid-base

## 1. บทนำ

ในการตรวจวัดความเป็นกรด-เบส สามารถทำได้หลายวิธีไม่ว่าจะเป็นการใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ การใช้ยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์ รวมไปถึงการใช้กระดาษลิตมัส บอกค่าความเป็นกรดเบส ซึ่งสามารถนำมาวิเคราะห์ได้ทั้งนั้น แต่ถ้าหากต้องการวิเคราะห์กรด-เบสกับตัวอย่างอาหาร เพื่อความปลอดภัยควรหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีเพื่อป้องกันการปนเปื้อนสารเคมีไปกับอาหารนั้น ๆ ดังนั้นอินดิเคเตอร์ทางธรรมชาติจึงมักถูกเลือกมาใช้ในการวิเคราะห์ความเป็นกรด-เบสของอาหารและเครื่องดื่ม และยังเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งอินดิเคเตอร์ทางธรรมชาติหนึ่งที่เป็นที่นิยมคือ แอนโทไซยานิน (anthocyanin) โดยแอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุที่พบในพืชทั้งในดอกและในผลให้สีแดง น้ำเงิน ม่วง ละลายน้ำได้ดี โครงสร้างของแอนโทไซยานิน ที่สำคัญ คือ แอนโทไซยานิน หรืออะไกลโคน (Aglycone) ซึ่งโครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานินนั้น ประกอบด้วย คาร์บอน 6 อะตอม คาร์บอน 3 อะตอม คาร์บอน 6 อะตอม (C-6-C-3-C-6) [1] โครงสร้างของแอนโทไซยานินจะมีการเปลี่ยนโครงสร้างในสภาวะกรด และในสภาวะเบสที่แตกต่างกันจึงทำให้สารละลายมีสีต่างกันตามพีเอชที่เปลี่ยนแปลง โดยส่วนใหญ่รงควัตถุแอนโทไซยานินให้สีแดงในสารละลายกรด สีม่วงในสารละลายกลาง และสีเขียวเหลืองในสารละลายเบส [2] ดังนั้นจึงมีการใช้แอนโทไซยานินเป็นอินดิเคเตอร์ทางธรรมชาติอย่างแพร่หลาย เช่น การใช้แอนโทไซยานินจากกล้วยไม้เป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรด-เบส [2] อินดิเคเตอร์กรด-เบส จากกะหล่ำปลีม่วง อัญชัน กล้วยไม้ และกุหลาบ [3] จากดอกเฟื่องฟ้า และดอกชบา [4] จากอัญชัญเป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรต [5] เป็นต้น นอกจากนี้มีการนำแอนโทไซยานินจากพืช ไปสร้างเป็นแผ่นฟิล์มตรวจวัดค่าพีเอช เช่นข้าวดำของจีน [6] กระเจี๊ยบแดง [7,8] มันม่วง [9] กะหล่ำปลีม่วง [10] แครอทดำ [11] ถั่วดำ [12] และแผ่นฟิล์มดอกอัญชัน [13] เป็นต้น

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจสกัดแอนโทไซยานินจากกล้วยไม้ตัดดอกในท้องตลาด เนื่องจากมีปริมาณตัวอย่างตลอดทั้งปี และราคาไม่แพง จากนั้นนำมาสร้างเป็นตัวตรวจวัดความเป็นกรด-เบสแบบกระดาษ เพื่อการนำไปใช้งานที่สะดวก รวดเร็ว ใช้งานภาคสนามได้ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และสามารถพัฒนาเป็นตัวตรวจวัดที่นำไปใช้กับตัวอย่างอาหารและเครื่องดื่มได้ต่อไป โดยการสกัดสารแอนโทไซยานินจากดอกกล้วยไม้ วิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพของสารสกัด จากนั้นสร้างเป็นตัวตรวจวัดและตรวจสอบความใช้ได้ของตัวตรวจวัดเบื้องต้น

## 2. อุปกรณ์และวิธีการ

### 2.1 สารเคมีและการเตรียมสารละลาย

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองนี้ประกอบด้วย สารละลายบัฟเฟอร์กรด เตรียมจากสารละลายกรดอะซิติก (acetic acid;  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) และสารละลายโซเดียมอะซิเตท (sodium acetate;  $\text{CH}_3\text{COONa}$ ), สารละลายบัฟเฟอร์เบสเตรียมจากสารละลายไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (dipotassium hydrogen phosphate;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) และสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (potassium dihydrogen phosphate;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) โดยเตรียมบัฟเฟอร์ในช่วง pH 2.0-10.0 โดยใช้ น้ำกลั่น (double distilled water) เป็นตัวทำละลายตลอดการวิเคราะห์การทดสอบสีของตัวตรวจวัด

สารละลายบัฟเฟอร์ในการหาปริมาณแอนโทไซยานิน ได้แก่ บัฟเฟอร์ pH 1.0 เตรียมจากสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (potassium chloride; KCl) ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ ปรับค่าพีเอชด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid; HCl) และบัฟเฟอร์ pH 4.5 เตรียมจากสารละลายโซเดียมอะซิเตท ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ปรับค่าพีเอชด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก [14]

## 2.2 ตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างกล้วยไม้ใช้ดอกกล้วยไม้สกุลหวายสีม่วงพันธุ์เอียสกุล (*Dendrobium Sonia* “Earsakul”) ในงานวิจัยนี้เก็บตัวอย่างกล้วยไม้ตัดดอกในตลาดสดอำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ นำมาล้างให้สะอาดเลือกเด็ดกลีบดอกสีม่วงเข้ม เก็บตัวอย่างแช่แข็งไว้ที่ -4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิจัยต่อไป

## 2.3 การสกัดแอนโทไซยานินจากดอกกล้วยไม้

ชั่งดอกกล้วยไม้ที่หั่นกลีบดอกส่วนสีม่วง เป็นชิ้นเล็ก ๆ นำมา 100 กรัม เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที [15] นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น ตามด้วยกรองด้วยกระดาษกรองเอาเฉพาะสารละลายเก็บไว้ในขวดสีชาเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

## 2.4 คุณสมบัติเคมี-กายภาพของสารสกัด

### 2.4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัด

วิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดด้วยวิธีโพเทนเชียลเฟอเรนเชียล (pH differential) [14] โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ pH 1.0 (potassium chloride, 0.025M) และ pH 4.5 ที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis spectrophotometer: รุ่น Lambda 12 บริษัท Perkin Elmer) จากนั้นหาปริมาณแอนโทไซยานินตามสมการ

$$\text{Anthocyanin pigment (cyanidin-3-glucoside equivalents, mg/L)} = (A \times MW \times DF \times 1000) / (\epsilon \times 1)$$

เมื่อ A คือ (A<sub>520 nm</sub> - A<sub>700 nm</sub>) pH 1.0 - (A<sub>520 nm</sub> - A<sub>700 nm</sub>) pH 4.5 MW คือ ค่ามวลโมเลกุลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ 499.2 กรัมต่อโมล DF คือ dilution factor  $\epsilon$  คือ โมลาร์แอบซอร์บติวิตีของ

ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ 26,900 ลิตรต่อโมลต่อเซนติเมตร โดยใช้ขนาดความกว้างของคิวเวตเท่ากับ 1 เซนติเมตร ในการวัดค่าดูดกลืนแสง

### 2.4.2 ค่าพีเอช

โดยนำสารสกัดที่ได้ไปวัดค่าความเป็นกรดต่างด้วยเครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter รุ่น HQ411d บริษัท HACH) ที่อุณหภูมิห้อง โดยทำการสอบเทียบเครื่องวัดค่าพีเอช ที่ pH 4.0 7.0 และ 10.0 ก่อนการวิเคราะห์

### 2.4.3 ค่าสี

ตรวจวัดค่าสีของสารสกัดและตัวตรวจวัดด้วยระบบ CIE L\* a\* b\* จำนวน 3 ซ้ำ ด้วยเครื่องวัดสี (Colorimeter: รุ่น Color Flex EZ บริษัท Hunter Lab) และคำนวณค่าความแตกต่างของสี (the total color different;  $\Delta E$ ) ดังสมการ [11]

$$\Delta E = [(L^* - L^*_0)^2 + (a^* - a^*_0)^2 + (b^* - b^*_0)^2]^{1/2}$$

เมื่อ L\* a\* b\* เป็นค่าที่วัดจากตัวอย่าง L\*<sub>0</sub> a\*<sub>0</sub> b\*<sub>0</sub> เป็นค่าของสารมาตรฐานหรือตัวเปรียบเทียบ ซึ่งในงานวิจัยนี้คือสารละลายพีเอช 7.0

### 2.4.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (total soluble solid) วิเคราะห์โดยเครื่องรีแฟลกโตมิเตอร์ (Refractometer: รุ่น N-1E บริษัท ATAGO) โดยรายงานผลในค่า °Brix [16] วัดสารละลายที่อุณหภูมิห้องทั้งหมด 3 ซ้ำ

### 2.4.6 วิเคราะห์การตอบสนองของสีสารสกัดต่อความเป็นกรดเบส

นำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 2.0-10.0 สังเกตสีของสารละลายที่เปลี่ยนแปลง และนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 380-800 นาโนเมตร

## 2.5 การสร้างตัวตรวจวัดความเป็นกรด-เบส

ในการสร้างตัวตรวจวัดความเป็นกรด-เบส โดยสร้างแผนตรวจวัดแบบกระดาษด้วยการการชุบกระดาษ

เซลล์ูลอสขนาด กว้าง x ยาว คือ 2.5 x 2.5 เซนติเมตร ด้วยสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกกล้วยไม้ เมื่อกระดาดชุ่มแล้วนำไปทำให้แห้งโดยการอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เก็บไว้ในโถดูดความชื้น ก่อนนำไปใช้งาน

## 2.6 ตรวจสอบความใช้ได้ของตัวตรวจวัดเบื้องต้น

### 2.6.1 วิเคราะห์การตอบสนองของสีตรวจวัดต่อความเป็นกรดเบส

นำตัวตรวจวัดไปทดสอบการตอบสนองของสีต่อความเป็นกรดเบส ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 2.0-10.0 สังเกตสีของตัวตรวจวัดที่เปลี่ยนแปลง และนำไปวัดค่าสีด้วยเครื่องเครื่องวัดสี

### 2.6.2 เปรียบเทียบการใช้งานตัวตรวจวัดกับเครื่องพีเอชมิเตอร์

นำตัวตรวจวัดไปทดสอบกับ สารละลายที่ค่า pH ในช่วงกรด กลาง และเบส เพื่อเปรียบเทียบผลค่า pH ของสารละลายที่สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยสายตา เทียบกับผลจากเครื่องพีเอชมิเตอร์ และยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์แบบกระดาษ (pH-Indicator strip บริษัท MERCK)

### 2.6.3 ศึกษาอายุการใช้งานของตัวตรวจวัด

นำตัวตรวจวัดไปทดสอบกับ สารละลายที่ค่า pH ต่าง ๆ (pH 2.0-10.0) จากนั้นทำการวัดค่าสีของตัวตรวจวัด ในวันที่เริ่มผลิตตัวตรวจวัดเปรียบเทียบกับ เมื่อเก็บตัวตรวจวัดไว้เป็นเวลา 5 15 และ 25 วัน โดยเก็บตัวอย่างไว้ในถุงพลาสติกปิดสนิทที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

## 3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

### 3.1 คุณสมบัติเคมี-กายภาพของสารสกัด

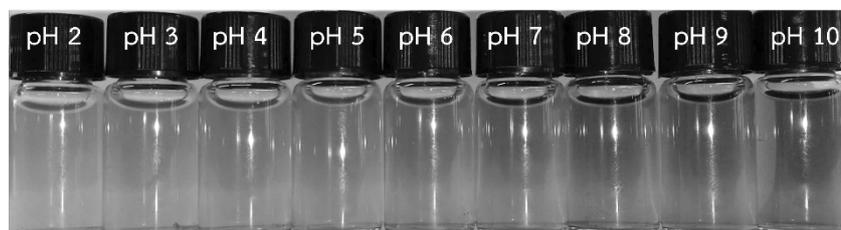
จากการสกัดสารแอนโทไซยานินอย่างง่ายจากดอกกล้วยไม้ โดยใช้ น้ำ เป็นตัวทำละลายพบว่า มีคุณสมบัติต่าง ๆ และสกัดแอนโทไซยานินจาก

ดอกกล้วยไม้ด้วยน้ำให้สารละลายสีม่วงอมชมพู ให้ค่าสีดังแสดงในตาราง (Table 1) ซึ่งให้สี ของสารสกัด และปริมาณแอนโทไซยานินสอดคล้องกับงานวิจัย Than-ikan, S. Et al. [15] ที่พบว่า การสกัดแอนโทไซยานินจากกล้วยไม้ด้วยการต้มด้วยน้ำร้อน สามารถสกัดแอนโทไซยานินได้ดีกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น เช่น เอทานอล เมทานอล และน้ำที่อุณหภูมิห้อง

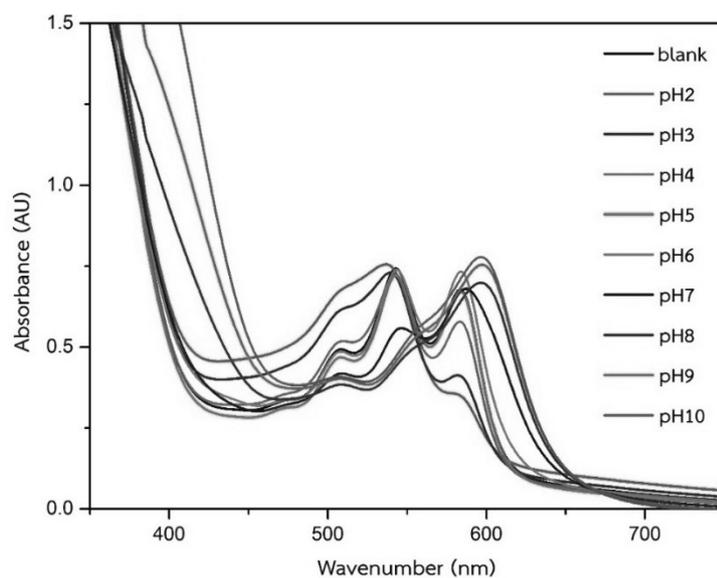
เมื่อนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 2.0-10.0 สังเกตสีของสารละลายที่เปลี่ยนแปลง (Figure 1) พบว่าสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกกล้วยไม้ให้สีชมพูอมส้มที่ pH 2-3 ให้สีชมพู ที่ pH 4.0-6.0 เปลี่ยนเป็นสีม่วงช่วง pH 7.0-8.0 และเปลี่ยนสีเป็นน้ำเงินเขียวช่วง pH 9.0 และ pH 10.0 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงสีของสารแอนโทไซยานินจากของ Anthony. Et al. (2013) [17] เมื่อนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงที่ความยาวคลื่น 380-800 นาโนเมตร (Figure 2) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงความยาวคลื่นในการดูดกลืนแสงสูงสุด ที่ 525 และ 600 นาโนเมตร โดยในช่วงความเป็นกรดจะดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 525 นาโนเมตร และเปลี่ยนเป็น 600 นาโนเมตร ในช่วงความเป็นเบส โดยอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ 600/525 นาโนเมตร ต่อค่า pH เป็นฟังก์ชันเพิ่มแบบเอกโปเนนเชียล (Figure 3) ตามสมการ  $y = 0.1389e^{0.2803x}$  โดยมีค่า  $R^2$  (coefficient of determination) 0.95 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อ pH เพิ่มมากขึ้น สีของสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวมากขึ้น เมื่อนำไปสร้างเป็นตัวตรวจวัดจะได้ตัวตรวจวัดที่เปลี่ยนจากช่วงสีส้มแดงเป็นเขียว ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงสีของสารแอนโทไซยานินจากมันม่วงของ Inyoung. Et al. (2017) [9]

**Table 1** Chemical and physical properties of anthocyanin extracts from orchid.

Sample	Cyanidin-3-glucoside (mg/L)	L*	a*	b*	pH	Total soluble solid (°Brix)
Orchid	7.91±0.72	1.927±0.355	6.133±0.840	1.480±0.394	5.03±0.05	2.69±0.63



**Figure 1** Color of anthocyanin extract solution from orchid at pH 2-10.



**Figure 2** UV-Vis spectra of anthocyanin extract solution from orchid in pH ranges of 2-10.

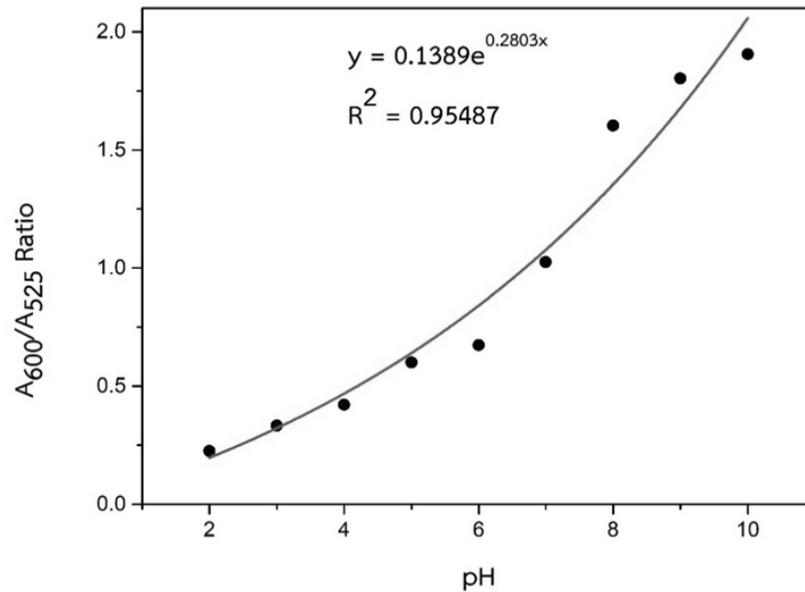


Figure 3 Absorbance ratios at 600 nm/525 nm of anthocyanin extract solution from orchid in pH ranges of 2-10.

### 3.2 การตอบสนองของสีตรวจวัดต่อความเป็นกรดเบส

การทดสอบการตอบสนองสีของตัวตรวจวัดจากกล้วยไม้ทำการทดลองโดยการแช่ตัวตรวจวัดลงในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 2.0-10.0 (Figure 4) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงสีที่มองเห็นของตัวอย่างตัวตรวจวัด เปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเขียวในบัฟเฟอร์ pH 2.0-10.0 โดยตัวตรวจวัดเปลี่ยนสีเป็นสีแดงที่ pH 2.0 และสีชมพูที่ pH 3.0 และ 4.0 เมื่อแช่ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ pH ที่สูงขึ้น pH 5.0-7.0 ตัวตรวจวัดมีสีม่วง จากนั้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินอมเขียวที่ pH 8.0 และเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเขียวใน

pH 9.0-pH 10.0 สามารถสังเกตสีที่เปลี่ยนแปลงของตัวตรวจวัดจากกล้วยไม้ด้วยตาเปล่าชัดเจน และเมื่อนำตัวตรวจวัดมาทดสอบค่าสีโดยให้สารละลายที่เป็นกลาง pH 7.0 เป็นชุดควบคุม (Table 2) พบว่าค่าความแตกต่างของสี ( $\Delta E$ ) ที่ pH 2.0-5.0 และ pH 8.0-10.0 มีค่าเกิน 5 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งเป็นค่าที่สายตามนุษย์สามารถแยกความแตกต่างของสีได้ [12] จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสามารถนำตัวตรวจวัดไปใช้งานและสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีด้วยตาได้จริง

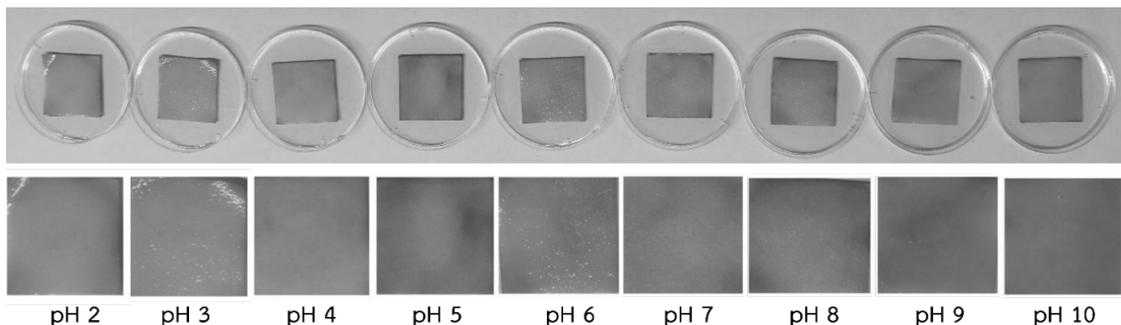


Figure 4 Color responses of anthocyanin acid-base sensor at different pH values (pH2.0-10.0)

**Table 2** Color parameters of anthocyanin acid-base sensor at different pH values (pH2.0-10.0)

pH values	Color parameters			
	L*	a*	b*	ΔE
pH 2.0	64.986	13.164	-3.912	11.703
pH 3.0	65.943	12.581	-5.473	10.660
pH 4.0	66.190	8.920	-7.632	6.713
pH 5.0	65.123	8.692	-9.594	6.665
pH 6.0	66.262	6.221	-8.735	4.082
pH 7.0	65.704	2.237	-8.040	control
pH 8.0	65.407	2.120	-2.912	5.138
pH 9.0	62.864	-6.081	0.710	12.402
pH 10.0	64.963	-5.375	1.600	12.305

**3.3 ผลการเปรียบเทียบการใช้งานตัวตรวจวัดกับเครื่องพีเอชมิเตอร์**

การเปรียบเทียบการใช้งานตัวตรวจวัดกับเครื่องพีเอชมิเตอร์ และกระดาษยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์ ถือเป็นการตรวจสอบความแม่นยำของตัวตรวจวัดทางหนึ่ง ซึ่งแสดงความใกล้เคียงกันของผลการวัดกับค่าจริง โดยทำการศึกษาโดยนำตัวตรวจวัดไปทดสอบกับสารละลายที่ค่า pH ในช่วงกรด กลาง และเบส โดยอ่านค่า

พีเอชที่ได้จากตัวตรวจวัดเทียบกับแถบมาตรฐาน (Figure 4) เพื่อเปรียบเทียบผลค่า pH ของสารละลาย เทียบกับพีเอชมิเตอร์ และยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์ (Table 3) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าการใช้ตัวตรวจวัดจากสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกกล้วยไม้ให้ค่าที่ใกล้เคียงกับเครื่องมือมาตรฐาน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตัวตรวจวัดในงานวิจัยนี้นำไปตรวจวัดตัวอย่างจริงได้

**Table 3** pH values from Universal indicator, pH meter and anthocyanin acid-base sensor

Samples	Universal indicator	pH meter	Anthocyanin acid-base sensor
Acidic	pH 3.0	pH 2.98	 pH 3-4
Neutral	pH 7.0	pH 7.06	 pH 7
Basidic	pH 9.0	pH 9.11	 pH 9

### 3.4 อายุการใช้งานของตัวตรวจวัด

การศึกษาอายุการใช้งานของตัวตรวจวัดโดยทำการวัดค่าสีในภาวะการตรวจวัดทันทีในวันที่เตรียมตัวตรวจวัดวันแรก และ 5 15 และ 25 วันหลังจากเตรียมตัวตรวจวัด โดยเก็บตัวอย่างไว้ในที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาหาค่าการเปลี่ยนแปลงสีที่วัดได้ในวันต่าง ๆ (Figure 5) พบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่ให้ค่าความแตกต่างของสี ( $\Delta E$ ) ไม่เกิน 5 แต่มีตัวอย่างที่ pH 4.0 7.0 และ 8.0 ให้ค่า

ความแตกต่างของสี ( $\Delta E$ ) มากกว่า 5 ซึ่งจะส่งผลให้การนำตัวตรวจวัดไปใช้งานโดยการอ่านสีด้วยตาคลาดเคลื่อนได้ ซึ่งสอดคล้องกับ Luciana et al. [12] ซึ่งทำการศึกษากลับตัวอย่างแผ่นฟิล์มแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีม่วงและเปลือกถั่วดำ โดยเก็บไว้ในที่สว่างจะทำให้อายุการใช้งานของแผ่นฟิล์มต่ำ ควรเก็บตัวอย่างไว้ในที่มืดจะยืดอายุการใช้งานได้มากขึ้น

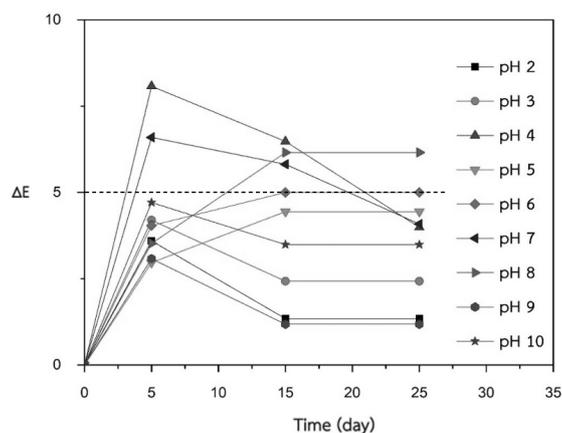


Figure 5 Color changes of anthocyanin acid-base sensor during storage at room temperature compared the sensor at initial time.

## 4. สรุป

การสกัดแอนโทไซยานินด้วยน้ำจากดอกกล้วยไม้สดสามารถสกัดแอนโทไซยานินออกมาได้ความเข้มข้นเท่ากับ  $7.91 \pm 0.72$  มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อนำสารสกัดไปทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 2.0-10.0 พบว่าสามารถสังเกตสีของสารละลายที่เปลี่ยนแปลงได้ด้วยตาเปล่า และเมื่อนำสารละลายไปสร้างเป็นตัวตรวจวัดโดยการหุบสารละลายด้วยกระดาษเซลลูโลส พบว่าสามารถนำไปตรวจวัดค่าสารละลายบัฟเฟอร์ pH 2.0-10.0 ให้การเปลี่ยนแปลงสีที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า และผลการเปรียบเทียบการวัดกับกับเครื่องพีเอชมิเตอร์ และกระดาษยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์ พบว่าให้ค่าการตรวจวัดได้ใกล้เคียงกัน

ที่การทดสอบในช่วงกรด (pH 3.0) กลาง (pH 7.0) และเบส (pH 9.0) ซึ่งจากผลการทดลอง พบว่าตัวตรวจวัดที่สร้างขึ้นมีความสามารถที่จะพัฒนาเป็นตัวตรวจวัดความเป็นกรด-เบสในอาหารได้ต่อไป

ข้อเสนอแนะในการพัฒนาตัวตรวจวัดไปใช้งานกับตัวอย่างอาหารได้จริง ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับปริมาณแอนโทไซยานินจากกล้วยไม้ตัดดอกจากห้องตลาดเปรียบเทียบกับตัวอย่างกล้วยไม้จากแหล่งอื่น ๆ ศึกษาการคงตัวของสารสกัด ศึกษาเก็บรักษาตัวตรวจวัดที่ให้อายุการใช้งานนานที่สุด เช่น ศึกษา เก็บรักษาตัวตรวจวัดให้พ้นแสงแดด ความชื้น เพื่อเพิ่มอายุการใช้งานของตัวตรวจวัด และศึกษาการใช้ตัวตรวจวัดในการทดสอบกับตัวอย่างอาหารและเครื่องดื่มจริงต่อไป

## 5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ พ.ศ. 2565 และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ด้านการสนับสนุนสถานที่และสิ่งอำนวยความสะดวกในการวิจัย

## 6. References

- [1] Arusa, C., (2011). Extraction and analysis of Anthocyanin. SWUJournal. 3(6): 26-36. (in Thai)
- [2] Thanikan, S., Kanokwan, S., Jidapa, J., Jutima, S., Petcharat, S., Yosita Y., Sumonmarn, C., (2019). Application of Natural Reagent from Orchid Flower as Indicator for Volumetric Acid-base Titration. TSTJ. 28(9): 1545-1557. (in Thai)
- [3] Mayarachat, C., Sanoe, C., (2021) Fabrication of simple paper-based indicator for using in acid-base learning. J. sci and sci ed. 3(1): 61-72. (in Thai)
- [4] Rattana, W., Khwankamol, C., Chalermporn, T., (2016). Colored plants used as natural indicators. Rajabhat J. Sci. Humanit. Soc. Sci. 17(1): 74-83. (in Thai)
- [5] Chalermporn, T., Piyawat, K., (2015). Acid-base titration by using Butterfly pea extract as indicator. Rajabhat J. Sci. Humanit. Soc. Sci. 16(2): 156-166.
- [6] Fansen, Z., Yanqi, Y., Jingna, L., Peng, Fei., (2023). Intelligent pH indicator composite film based on pectin/chitosan incorporated with black rice anthocyanins for meat freshness monitoring. Food Chem :X. 17: 1-10.
- [7] Kana, H. E., Wen, X. L. F., Joseph, M. V., Kobun, R., Koh, W. Y., (2022). Synthesis and Physicochemical Characterization of Polymer Film-Based Anthocyanin and Starch. Biosensors. 12 (211): 1-15.
- [8] Xiaodong, Z., Jiyong, S., Xiaobo, Z., Sheng, W., Caiping, J., (2017). Novel colorimetric films based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with roselle anthocyanins for fish freshness monitoring. Food Hydrocolloids. 69: 308-317.
- [9] Inyoung, C., Jun, Y. L., Monique, L., Jaejoon, H., (2017). Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. Food Chem. 218: 122-128.
- [10] Simin, P., Hadi, A., Saeed, M., Sajad, P., Ehsan, P., (2017). Development of a colorimetric pH indicator based on bacterial cellulose nanofibers and red cabbage (*Brassica oleracea*) extract. Carbohydr. Polym. 156: 193-201.
- [11] Fahimeh, E. T., Mehran, M., Hossein, T., Mehrdad, F., Parya, E., Bambang, K., (2019). Cellulose/chitosan pH-responsive indicator incorporated with carrot anthocyanins for intelligent food packaging. Int. J. Biol. Macromol. 136: 920-926.
- [12] Luciana, P., Taiane, C. M., Vania, Z. P., Jessica, F. H., Nathan, L. V., Loong-Tak, L., Alvaro, R. G. D., Elessandra, da R. Z., (2017). pH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. LWT- Food Sci. Technol. 80: 492-500.

- [13] Samart, S., Phunsiri, S., Wirongrong, T., Saroat, R., Pimonpan, K., Thomas, K., Frédéric, D., Pascal, D., (2021). Using Anthocyanin Extracts from Butterfly Pea as pH Indicator for Intelligent Gelatin Film and Methylcellulose Film. *Curr. Appl. Sci. Technol.* 21(40): 652-661.
- [14] Jungmin, L., Robert, D., Robert Ronald, E. W., 2005, Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative Study, *J. AOAC Int.* 88(5): 1268-1278.
- [15] Thanikan, S., Petcharat, S., Sumonmarn, C., 2017. Use of Natural Pigment from Orchid as a Reagent for Quantitative Analysis of Ammonia in Chemical Fertilizers, *BUSCIJ. Special Volume 2017*: 366-376. (in Thai)
- [16] Bumrungrat, R., a Thongchai, S., Pitiporn, R., Sumaporn K., .2018, Determination of water activity, total soluble solids and moisture, sucrose, glucose and fructose contents in osmotically dehydrated papaya using near-infrared spectroscopy, *Kasetsart J.: Nat. Sci.* 52:557-564.
- [17] Anthony, A., Vasil, G., Joel, O., Bobby, P. and Violeta, T., (2013). Production of Anthocyanins in Grape Cell Cultures: A Potential Source of Raw Material for Pharmaceutical, Food, and Cosmetic Industries. *The Mediterranean Genetic Code. InTech.* 247-287.