

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมี

1. พืชตัวอย่าง (ขมิ้นชัน, ใบเตย, เมล็ดผักปลัง, เปลือกแก้วมังกรผลสีแดง และ เมล็ดคำแสด)
2. เอทานอล (Ethanol , C_2H_5OH) 95% AR grade ของบริษัท Merck
3. ไอโซโพรพานอล (Isopropanol , $(CH_3)_2OH$) 99.5% AR grade ของบริษัท Merck
4. สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4 (Buffer solution pH 4)
5. สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 7 (Buffer solution pH 7)
6. น้ำกลั่น (Distilled water)
7. กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
8. กรดอะซิติก (CH_3COOH)
9. โซเดียมอะซิเตต (CH_3COONa)
10. โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_4)
11. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)
12. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

วัสดุ – อุปกรณ์

1. โกร่งบด (Mortar)
2. กรวยกรอง (Filter Funnel)
3. กระดาษกรอง (Filter Paper)
4. บีกเกอร์ (Beaker)
5. หลอดทดลอง (Test tube)
6. กระบอกตวง (Graduated Cylinder)
7. เครื่องวัดความหนืด (Oswald Viscometer)
8. เครื่องวัดความหนาแน่น (Pycnometer)
9. เครื่องวัดพีเอช (pH Meter) Beckman
10. เครื่องสเปกโตรนิค – 20 (Spectronic – 20) Milton Roy Company

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมรงควัตถุจากพืชตัวอย่าง

- 1.1 เก็บตัวอย่างขมิ้นชันสด 1 กิโลกรัม จากเขตอำเภอพญาเม็งราย จังหวัดเชียงราย
- 1.2 นำขมิ้นชันสด มาหั่นฝอย เกลี่ยบนถาดพลาสติก คลุมด้วยผ้าขาวบางแล้วผึ่งแดดให้แห้งเป็นเวลา 5 วัน
- 1.3 นำขมิ้นชันที่แห้ง มาบดให้ละเอียดเป็นผง ชั่งน้ำหนักผงแห้ง แล้วบันทึกน้ำหนักผงแห้งที่ได้
- 1.4 เก็บผงแห้งของขมิ้นชันไว้ในภาชนะที่สะอาด มีฝาปิด และแห้ง
- 1.5 ตีคสลาบกากกับข้อผงแห้งของขมิ้นชัน พร้อมระบุน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง
- 1.6 ทำซ้ำเหมือนเดิม ตั้งแต่ขั้นที่ 1.1 ถึง 1.5 แต่เปลี่ยนพืชตัวอย่าง เป็นใบเตย เมล็ดผักปลัง เปลือกแก้วมังกรผลสีแดงและเมล็ดคำแสด ตามลำดับ

2. การเปรียบเทียบตัวทำละลายที่เหมาะสม ในการละลายรงควัตถุในผงแห้งและให้

ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (Maximum Absorbance)

- 2.1 ชั่งผงแห้งของขมิ้นชัน 2 กรัมใส่ลงในบีกเกอร์
- 2.2 ละลายผงแห้งของขมิ้นชันด้วยเอทานอล ปริมาตร 10 cm³ แล้วตั้งทิ้งไว้นาน 30 นาที
- 2.3 กรองสารสกัดผงแห้งของขมิ้นชัน ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1
- 2.4 นำสารสกัดผงแห้งของขมิ้นชันที่ได้ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องสเปกโตรนิค -20 (Spectronic - 20)
- 2.5 บันทึกค่าความยาวคลื่นแสงที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารสกัดผงแห้งของขมิ้นชัน
- 2.6 ทำซ้ำตั้งแต่ขั้นตอนที่ 2.1 ถึง 2.5 แต่เปลี่ยนเป็นผงแห้งของพืชตัวอย่างจากขมิ้นชัน เป็น ใบเตย เมล็ดผักปลัง เปลือกแก้วมังกรผลสีแดง และ เมล็ดคำแสด ตามลำดับ
- 2.7 ทำซ้ำตั้งแต่ขั้นตอนที่ 2.1 ถึง 2.6 แต่เปลี่ยนตัวทำละลายจาก เอทานอล เป็น ไอโซโพรพานอล แล้วบันทึกผล
- 2.8 เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ของสารสกัดผงแห้งของขมิ้นชัน ใบเตย เมล็ดผักปลัง เปลือกแก้วมังกรผลสีแดง และเมล็ดคำแสด ที่สกัดด้วยเอทานอลกับไอโซโพรพานอล

3. การศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายกับผงแห้งของพืชตัวอย่างที่เหมาะสมในการละลายรงควัตถุ การดูดซับบนกระดาษ และการระเหยแห้ง

3.1 ชั่งผงแห้งของขมิ้นชัน มา 1 กรัมแล้วละลายด้วยเอทานอล ปริมาตร 1 cm³ (อัตราส่วน ผงแห้ง ต่อ ตัวทำละลาย = 1 : 1) สังเกตผลการละลาย บันทึกผล

3.2 หยดสารสกัดสีที่ได้ จำนวน 1 หยด ลงบนกระดาษ สังเกตการกระจายตัวของสารสกัดสีบนกระดาษ จับเวลาการระเหยแห้ง และบันทึกผล

3.3 ทำซ้ำเหมือนขั้นตอนที่ 3.1 ถึง 3.2 แต่เปลี่ยนอัตราส่วนผงแห้ง ต่อ ตัวทำละลายเป็น 1 : 2, 1 : 3, 1 : 4, 1 : 5, 1 : 10, 1 : 15 และ 1 : 20 ตามลำดับ สังเกตการกระจายตัวของสารสกัดสีบนกระดาษ จับเวลาการระเหยแห้ง และบันทึกผล

3.4 ทำซ้ำเหมือนขั้นตอนที่ 3.1 ถึง 3.3 แต่เปลี่ยนผงแห้งของพืชตัวอย่างจากขมิ้นชัน เป็น ใบเตย เมล็ดผักปั้ง เปลือกแก้วมังกรผลสีแดง และ เมล็ดคำแสด ตามลำดับ

4. การศึกษาค่าความคงทนของสารสกัดสีของพืชตัวอย่าง

4.1 นำอัตราส่วนที่ดีที่สุดระหว่างตัวทำละลาย กับผงแห้งของขมิ้นชัน มาวัดค่าการดูดกลืนแสง ณ ความยาวคลื่นแสงที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) แล้วบันทึก ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด เมื่อเวลาผ่านไป ทุกๆ 1 วัน เป็นเวลาทั้งสิ้น 14 วันติดต่อกัน (2 สัปดาห์) สังเกตและบันทึกผล

4.2 สร้างกราฟเปรียบเทียบผลการดูดกลืนแสงสูงสุด กับ เวลา

4.3 ทำซ้ำเหมือนขั้นตอนที่ 4.1 ถึง 4.2 แต่เปลี่ยนผงแห้งของพืชตัวอย่างจากขมิ้นชัน เป็น ใบเตย เมล็ดผักปั้ง เปลือกแก้วมังกรผลสีแดง และเมล็ดคำแสด ตามลำดับ

5. การศึกษาค่าความเป็นกรด – เบส ของสารสกัดสีจากพืชตัวอย่าง

5.1 นำอัตราส่วนที่ดีที่สุดระหว่างตัวทำละลาย กับ ผงแห้งของ ขมิ้นชัน มาวัดค่าความเป็นกรด – เป็นเบส (pH) ด้วยเครื่องวัดพีเอช (pH Meter) สังเกตและบันทึกผล

5.2 ทำซ้ำเหมือนขั้นตอนที่ 5.1 ถึง 5.2 แต่เปลี่ยนผงแห้งของพืชตัวอย่างจากขมิ้นชัน เป็น ใบเตย เมล็ดผักปั้ง เปลือกแก้วมังกรผลสีแดง และเมล็ดคำแสด ตามลำดับ

6. การศึกษาค่าความหนาแน่นและความหนืดของสารสกัดสีของพืชตัวอย่าง

6.1 นำอัตราส่วนที่ดีที่สุดระหว่างตัวทำละลายกับผงแห้งของขมิ้นชัน มาวัดค่าความหนาแน่น (Density) ด้วยพิคโนมิเตอร์ (Pycnometer) และจับเวลาที่ใช้ในการไหลผ่านหลอดกะปิสตาริของเครื่องวัดความหนืด (Viscometer) ณ อุณหภูมิห้อง สังเกตและบันทึกผล

6.2 ทำซ้ำเหมือนขั้นตอนที่ 6.1 แต่เปลี่ยนผงแห้งของพืชตัวอย่าง จากขมิ้นชัน เป็น ใบเตย เมล็ดผักปั้ง เปลือกแก้วมังกรผลสีแดง เมล็ดคำแสด และเอทานอล ตามลำดับ

6.3 คำนวณค่าความหนาแน่นของเอทานอลและสารสกัดสีของพืชแต่ละชนิด ณ อุณหภูมิ 32 °C

6.4 สร้างกราฟมาตรฐานค่าความหนืดของเอทานอล ณ อุณหภูมิต่างๆ

6.5 คำนวณค่าความหนืดของเอทานอลและสารสกัดสีของพืชแต่ละชนิด ณ อุณหภูมิ 32 °C

7. การศึกษาจำนวนรงควัตถุเบื้องต้น ในสารสกัดสีจากพืชตัวอย่างด้วยวิธี โครมาโทกราฟีโดยใช้ขอลักเป็นตัวดูดซับ

7.1 บีบเปิดสารสกัดสีของขมิ้นชัน ใส่ในบีกเกอร์ บีกเกอร์ละ 5 cm³

7.2 นำแท่งขอลักด้านป้านวางลงไปตรงกลางบีกเกอร์ นาน 5 – 10 นาที สังเกตและ บันทึกผลการแยกของแถบสีรงควัตถุเบื้องต้น

7.3 ทำการทดลองซ้ำเหมือนขั้นตอนที่ 7.2 แต่เปลี่ยนสารสกัดสีจากขมิ้นชัน เป็น ใบเตย เมล็ดผักปลัง เปลือกแก้วมังกรผลสีแดงและเมล็ดคำแสด ตามลำดับ

8. การศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงสี ของสารสกัดสีจากพืชตัวอย่าง ที่พีเอชต่างๆ (การทดสอบความเป็นอินดิเคเตอร์อย่างง่าย)

8.1 บีบเปิดสารละลายพีเอช 1 ปริมาตร 5 cm³ ใส่ลงในหลอดทดลอง จำนวน 1 หลอด

8.2 ทำซ้ำเหมือนขั้นตอนที่ 8.1 แต่เปลี่ยนเป็นสารละลายพีเอช 2 – 13

8.3 หยดสารสกัดสีของขมิ้นชันลงไป 10 หยด เขย่าสารละลายให้เข้ากัน สังเกต การเปลี่ยนแปลงสี และบันทึกสีของสารละลายในแต่ละพีเอช

8.4 ทำการทดลองซ้ำเหมือนขั้นตอนที่ 8.3 แต่เปลี่ยนสารสกัดสีจากขมิ้นชัน เป็น ใบเตย เมล็ดผักปลัง เปลือกแก้วมังกรผลสีแดงและเมล็ดคำแสด ตามลำดับ

9. การประยุกต์สารสกัดสีจากพืชตัวอย่าง ในการใช้เป็นปากกาเน้นข้อความ / ปากกาเคมี สีจากธรรมชาติอย่างง่าย

9.1 ตัดฟองน้ำให้เป็นแผ่นกลมยาว ขนาด 2x10 เซนติเมตร เพื่อใช้เป็นแผ่นกรอง น้ำหมึกสีจากพืชตัวอย่าง

9.2 นำแท่งกาวนำมาล้างให้สะอาด และล้างซ้ำด้วยด้วยเอทานอล เพื่อประยุกต์ใช้เป็นแท่งปากกาเน้นข้อความ แล้วติดสติกเกอร์กับชื่อบรรจุภัณฑ์ เป็นสารสกัดสีจากขมิ้นชัน

9.3 รินสารละลายสารสกัดสีของขมิ้นชันจำนวน 10 cm³ ใส่ลงแท่งปากกาเน้นข้อความประยุกต์ ที่เตรียมไว้

9.4 ทดสอบการใช้เป็นปากกาเน้นข้อความอย่างง่าย โดยการป้ายลงบนกระดาษ สีขาว

9.5 ทดสอบโดยการป้ายลงบนกระดาษที่มีน้ำหมึกพิมพ์

9.6 ทำซ้ำเหมือนเดิม ตั้งแต่ขั้นตอนที่ 9.1 – 9.5 แต่เปลี่ยนสารสกัดสีจากขมิ้นชัน เป็น
ใบเตย เมล็ดผักปลัง เปลือกแก้วมังกรผลสีแดงและเมล็ดคำแสด ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University