

บทที่ 1

บทนำ

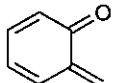
1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

มนุษย์รู้จักการใช้สีจากวัสดุธรรมชาติ คือ พืช สัตว์และแร่ธาตุมาช้านาน โดยนำมาตกแต่งสีของอาหาร เครื่องแต่งกาย เครื่องมือเครื่องใช้ ที่อยู่อาศัย⁽¹⁾ การรู้จักใช้วัสดุจากธรรมชาติมาแต่งแต้มสีสันให้กับชีวิตในแง่มุมต่างๆจึงเป็นความรู้อีกแขนงหนึ่งที่มีการพัฒนาการสืบทอดกันต่อมา แต่การถ่ายทอดจะมีกันเฉพาะภายในแต่ละครอบครัวหรือชนกลุ่มเดียวกันไม่เป็นที่แพร่หลายและไม่มีการบันทึกไว้เป็นหลักฐานประจวบกับการที่สังคมได้พัฒนาขึ้นไปสู่ยุคของวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทำให้ชนรุ่นหลังไม่สนใจที่จะศึกษาและสืบทอด ภูมิความรู้เหล่านี้จึงค่อยๆสูญหายไปกับกาลเวลา นอกจากนี้ในปัจจุบันมีการผลิตสีสังเคราะห์ขึ้นมากมายมีหลายเฉดสีให้เลือก เตรียมได้ง่ายมีความคงทนและราคาถูกทำให้ผู้ใช้นิยมใช้สีสังเคราะห์กันมากขึ้นแต่สีเหล่านี้มักจะเป็นสารที่ก่อมะเร็ง เป็นพิษต่อเยื่อปอดผิวหนัง สมอง ระบบประสาท หัวใจและเลือดและยังทำให้เกิดมลภาวะกับสิ่งแวดล้อม⁽²⁾ ด้วยสาเหตุเหล่านี้ทำให้มีการหันกลับไปหาสีย้อมธรรมชาติกันมากขึ้นเนื่องจากมีคุณสมบัติที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้แต่ปัญหาของการใช้สีย้อมจากธรรมชาติก็มีมาก เช่น การเตรียมสีทำได้ยาก สีที่ได้แต่ละครั้งไม่เหมือนเดิม กรรมวิธียุ่งยากซับซ้อนและมีความแตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่น สีไม่คงทน ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาการพัฒนาการสกัดสีจากธรรมชาติชนิดหนึ่งคืออินดิโกเพื่อฟื้นฟูภูมิปัญญาดั้งเดิมเกี่ยวกับสีชนิดนี้และแก้ไขปัญหาดังกล่าวที่เกิดขึ้นในการใช้สีอินดิโกนี้ การวิจัยได้ทำการหมักคราม(*Indigofera tinctoria* Linn.) และย้อม (*Baphicacanthus cusia* Brem.) ซึ่งเป็นพืชที่ให้สีอินดิโกและมีมากในภาคเหนือของไทย ทั้งนี้เพื่อเปรียบเทียบปริมาณและคุณภาพของสีที่ได้และดัดแปลงสีให้อยู่ในสภาพที่สามารถเก็บรักษาได้ง่ายและสะดวกแก่การใช้

1.2 เกมของสารให้สีและสีย้อม⁽³⁾

สารให้สีนั้นมีทั้งที่เป็นสารประกอบอินทรีย์และสารประกอบอนินทรีย์สารประกอบอนินทรีย์ที่ให้สีมักจะเป็นของผสมออกไซด์ของโลหะ หรือเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะ เช่นออกไซด์ของเหล็กผสมกับออกไซด์ของโครเมียม เป็นต้น สีประเภทนี้เคยใช้ย้อมในอดีต โดยที่สารให้สีเหล่านี้จะเกิดการตกตะกอนในช่องว่างระหว่างโมเลกุลของเส้นใย เป็นสีที่มีความคงทนต่อแสงมาก ในประเทศไทยมีการย้อมสีในกลุ่มนี้ในอุตสาหกรรมครัวเรือนโดยการหมักโคลนและดินแดงซึ่งมีสารพวกอะลูมิเนียมซิลิเกตและส่วนให้สีเป็นออกไซด์ของโลหะที่มีอยู่ในโครงสร้างของดินส่วนมากโลหะที่ใช้ได้แก่ เหล็ก ตะกั่ว นิเกิล ทองแดง แมงกานีส โคบอลต์และโครเมียม ตัวอย่างเช่น สีเหลืองจากตะกั่วโครเมต สีฟ้าที่ใช้ย้อมผ้าในอดีตได้จากออกไซด์ของ

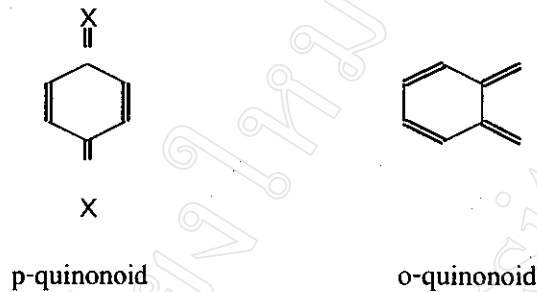
เหล็กผสมกับออกไซด์ของโครเมียมเป็นต้น จะเห็นได้ว่าสีจากแร่โลหะดังกล่าวเป็นโลหะหนักซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ในปัจจุบันจึงหมดความนิยมไป ส่วนสารให้สีในกลุ่มของสารประกอบอินทรีย์นั้นมักจะเป็นสารประกอบเชิงซ้อนประกอบด้วยธาตุคาร์บอนต่ออยู่กับอะตอมของธาตุอื่นๆ ซึ่งส่วนมากเป็นไฮโดรเจน ไนโตรเจน ออกซิเจน และกำมะถัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มที่มีคาร์บอนต่อกันเป็นวงและมีโครงสร้างประกอบด้วยวงเบนซีน (benzene ring) หรือเบนโซควิโนอยด์ (benzoquinoid) ตามปกติเบนซีนไม่มีสีแต่หากมีกลุ่มของอะตอมอื่นๆที่เหมาะสมมาแทนที่ไฮโดรเจนอะตอมใดอะตอมหนึ่งหรือหลายอะตอมในเบนซีนจะได้สารประกอบที่มีสี สารให้สีอาจจะประกอบด้วยวงแหวนเบนซีนวงเดียวหรือมากกว่า ลักษณะและสมบัติของสารให้สีขึ้นอยู่กับโครงสร้างโมเลกุลและตำแหน่งที่กลุ่มของอะตอมอื่นๆมาเกาะติดอยู่ บนตำแหน่งต่างๆของโครงสร้างนั้นๆ การที่สารประกอบดังกล่าวให้สีได้เนื่องจากมีกลุ่มของอะตอมที่ทำให้เกิดสีมีการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่นต่างๆกลุ่มของอะตอมเหล่านี้เรียกว่าโครโมฟอร์ (chromophors) ได้แก่

หมู่ไนโตร (nitro)	ซึ่งมีสูตรเคมี	NO_2
หมู่ไนโตรโซ (nitroso)		$-\text{N}=\text{O}$
หมู่เอโซ (azo)		$-\text{N}=\text{N}$
หมู่แอลฟาไดคีโตน (α -diketone)		$\begin{array}{c} -\text{C}=\text{O} \\ \\ -\text{C}=\text{O} \end{array}$
หมู่พาราควิโนอยด์ (p-quinonoid)		
หมู่ออร์โทควิโนอยด์ (o-quinonoid)		

สารประกอบที่มีกลุ่มเหล่านี้เรียกว่า โครโมเจน (chromogen) ซึ่งจะใช้เป็นสีย้อมได้ยังต้องมีกลุ่มของอะตอมอีกจำพวกหนึ่งเรียกว่า อ็อกโซโครม (auxochrome) ซึ่งจะช่วยให้สีเข้มขึ้นและมีสมบัติเป็นกรดหรือด่างเพื่อที่จะได้เกาะติดแน่นบนวัสดุที่ใช้ย้อม หมู่อ็อกโซโครมที่สำคัญได้แก่ หมู่ไฮดรอกซิล ($-\text{OH}$) หมู่อะมิโน ($-\text{NH}_2$) หมู่อัลคิลอะมิโน (alkly amino $-\text{NHR}$, $-\text{NR}_2$) หมู่ซัลโฟนิค ($-\text{SO}_3\text{H}$) และหมู่ คาร์บอกซิล ($-\text{COOH}$) เป็นต้น หมู่ซัลโฟนิคมีความสำคัญมากในการช่วยให้สีย้อมละลายในน้ำได้

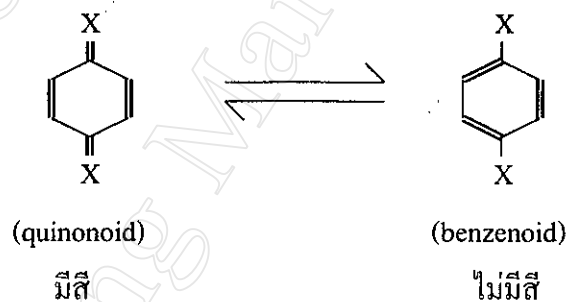
นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าการที่สารประกอบบางชนิดมีสีเนื่องจากมีโครงสร้างหลักเป็นสารประกอบอะโรมาติก (aromatic compound) ซึ่งอยู่ในสภาวะไม่อิ่มตัว (unsaturated condition) คล้ายกับโครงสร้างของควิโนน (quinone) โดยอาจเป็นพาราควิโนอยด์ (p-quinonoid) หรือ

ออโร-ควิโนนอยด์ (o-quinonoid) ดังโครงสร้างข้างล่าง



X คือ กลุ่มของอะตอม

สีย้อมหลายชนิดสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งในลักษณะควิโนนอยด์และเบนซีนอยด์และจะสามารถเปลี่ยนกลับไปมาได้หากสภาวะแวดล้อมเปลี่ยนไป เช่น ตัวทำละลาย ความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิ เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงเช่นนี้มักเกิดร่วมกับการเกิดสีหรือการที่สีหายไปเรียกการเปลี่ยนแปลงเช่นนี้ว่า ไอโซเมอริกเชน (isomeric chain) แสดงได้ด้วยปฏิกิริยาต่อไปนี้



ลักษณะการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการที่สีย้อมตกสี หรือซีดจางเมื่อได้รับแสง สบู่ ผงซักฟอก และสาเหตุอื่นๆ

สีย้อมหลายชนิดเมื่อได้รับไฮโดรเจนเข้ามาเติมที่ในโมเลกุล จะได้สารเคมีที่ไม่มีสีเรียกว่า สารประกอบลิวโค (leuco compound) ซึ่งเมื่อถูกออกซิไดซ์ (oxidize) จะได้สารเคมีที่มีสี เช่น สีอินดิโก(indigo)ขณะย้อมตอนแรกจะยังไม่มีสีแตเมื่อนำขึ้นมาจากภาชนะที่ย้อมจะถูกออกซิไดซ์โดยออกซิเจนในอากาศได้เป็นสารสีน้ำเงิน เพราะฉะนั้น โครงสร้างของโมเลกุลของสีย้อมมีความสำคัญต่อการเกิดสี ส่วนคุณสมบัติเฉพาะของสีย้อม เช่น ความทนทานต่อสภาวะแวดล้อม การตกสีหรือซีดจาง การเกาะติดบนเส้นใยชนิดต่างๆ และปฏิกิริยาต่อสารเคมีอื่นๆ ขึ้นอยู่กับกลุ่มของอะตอมที่มาเกาะอยู่กับโครงสร้างหลักของโมเลกุล

1.3 แหล่งของสีย้อม

สีย้อมที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันแบ่งออกตามแหล่งที่มาได้ 2 แหล่งคือ สียังเคราะห์ (synthetic dye) และสีธรรมชาติ (natural dye)

1.3.1 สียังเคราะห์ เป็นสารสีย้อมที่สังเคราะห์ขึ้นจากปฏิกิริยาเคมีให้มีโครงสร้างที่เกิดสีต่างๆ ได้มากมาย มีกลุ่มของอะตอมที่ทำให้เกิดสีสด มีความคงทนไม่ตกสีง่าย ทนต่อการซักฟอก และตากแดด สามารถปรับให้เลือกย้อมกับเส้นใยต่างๆ ได้ดี ใช้ง่ายและเก็บรักษาได้ดี สามารถผลิตได้ในปริมาณมากเพียงพอแก่การใช้และราคาไม่แพง⁽⁴⁾ มีผลการค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับอันตรายของสีย้อมหลายชนิดต่อสิ่งแวดล้อม พบว่าสีย้อมที่มีสารประกอบเอมีน (amine) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง benzidine ที่เป็นสารก่อมะเร็งระหว่างการย้อมสีและเมื่อมีการทิ้งน้ำย้อมลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะหรือตามพื้นดิน สารประกอบเอมีนในตัวสีและในตะกอนของสีที่ตกค้างอยู่ในธรรมชาติสามารถแยกตัวและเข้าไปสะสมในร่างกาย ในตัวสัตว์เลี้ยงในพืชหรือในตัวปลาที่อาศัยในแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนของน้ำทิ้งจากสีย้อม เมื่อเรารับประทานผัก ผลไม้หรือเนื้อสัตว์ที่มีเอมีนนี้สะสมอยู่ ตัวเอมีนเองจะเข้าไปสะสมในร่างกายแล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสารก่อมะเร็ง ยิ่งเอมีนนี้มีการสะสมมาหลายช่วงก็ยิ่งอันตรายมากขึ้น

1.3.2 สีธรรมชาติ เป็นสีที่ได้จากพืช สัตว์ จุลินทรีย์และแร่ธาตุต่างๆ สีที่ได้จากพืชมักเป็นสารอินทรีย์ที่ได้จากส่วนต่างๆ ของพืชตั้งแต่ราก เปลือกกราก ลำต้น เปลือกต้น แก่นไม้ ใบ ดอก ผล และเมล็ด สีจากสัตว์มักเป็นสีที่ได้จากแมลง เช่น ครั่งซึ่งพบมากในประเทศไทยนั้นเป็นสีในกลุ่มสีแดงที่ขับออกมาจากตัวแมลง *Laccifera lacca* นิยมใช้ย้อมไหมและขนสัตว์ และใช้เป็นสีผสมอาหาร สีจากจุลินทรีย์พบมากในรา ยีสต์และแบคทีเรีย

ความรู้เกี่ยวกับดินไม้และสัตว์ที่นำมาใช้ย้อมสีได้ถูกบันทึกไว้ตามเอกสารต่างๆ รวมทั้งถ่ายทอดด้วยปากเปล่าสืบมาจนถึงปัจจุบัน เช่น บันทึกของพิพิธภัณฑ์สถานแห่งชาติเกี่ยวกับสีที่ใช้ย้อมผ้า ดังตาราง 1.1

ตาราง 1.1 สีย้อมที่ได้จากวัสดุธรรมชาติ⁽⁵⁾

ย้อมด้วย	สี
ขมิ้นชัน ใบสักและเปลือกไม้	1. สีกาเกี
แก่นขนุน	2. สีกาเกีแก่หรือสีกลัก
ใบสมอป่า แก่นขนุน เปลือกเพกา	3. สีกาเกีแถมเขียวหรือเขียวแก่
ใบแค	4. สีเขียวอ่อน
เปลือกสมอกับใบสมอ	5. สีเขียวแก่
ใบสับปะรดอ่อนกับน้ำมะนาวหรือน้ำมะกรูด	6. สีเขียวทองอ่อน
ขมิ้น แก่นไม้แกลเล แก่นขนุน ลูกมะลาย	7. สีเหลือง

ตาราง 1.1 สีย้อมที่ได้จากวัสดุธรรมชาติ⁽⁵⁾ (ต่อ)

ย้อมด้วย	สี
แก่นแกลแล รากข่อยป่ากับผิวมะกรูด	8. สีเหลืองอ่อน
แก่นขนุน	9. สีเหลืองแก่
ดอกคำแสด	10. สีจำปา
แก่นข่อยป่า	11. สีไพร
รากข่อยป่า	12. สีนวล
ผลและใบแสด	13. สีแสด
เปลือกสมอ	14. สีแดงขม
รากข่อยป่า ค้างไม้เหมือด ผลคำแสด	15. สีแดง
ใบครามและใบย้อม	16. สีน้าเงิน
สมอ มะเกลือ	17. สีดำ

นอกจากนี้กรรมปฎิบัติโดย วนิดา สุบรรณเสณีได้รวบรวมไว้ในหนังสือของป่าในประเทศไทยซึ่งแสดงไว้ในตาราง 1.2

ตาราง 1.2 สีธรรมชาติจากพืชและสัตว์⁽⁶⁾

ลำดับที่	ชื่อทางการ	ชื่อพฤกษศาสตร์	ส่วนที่ให้สี	สี
1	กรรณิการิ	<i>Nyctanthes arbor-tristis</i> Linn.	หลอดดอก	เหลืองทอง
2	ก่อ	<i>Quercus</i> spp.	เปลือก	เหลืองเข้ม
3	ก้านเหลือง	<i>Nauclea orientalis</i> Linn.	แก่น	เหลือง
4	กระเจาย	<i>Caesalpinia sepiaria</i> Roxb	ลูก	ดำ
5	แกลแล	<i>Maclura cochinchinensis</i> Corner.	แก่น	น้ำตาล
6	โกงางใบใหญ่	<i>Rhizophora mucronata</i> Poir.	เปลือก	น้ำตาล
7	โกงางใบเล็ก	<i>Rhizophora apiculata</i> Bl.	เปลือก	น้ำตาลแกมเหลือง
8	ขนุน	<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lamk.	แก่น ราก	เหลือง
9	ขนุนป่า	<i>Articaroy's lanceifolius</i> Roxb.	แก่น	เหลือง
10	ขมิ้นชัน	<i>Curcuma domestica</i> Valetton	หัว	เหลือง
11	ขี้กา	<i>Adeia penangiana</i> Wilde	เปลือก	เขียว
12	ขี้เหล็ก	<i>Cassua siamea</i> Britt	แก่น	เหลือง
13	คนหา	<i>Harrisonia perforata</i> Merr.	ผล	ดำ
14	คราม	<i>Indigofera tinctoria</i> Linn.	ต้น	น้ำเงิน
15	คาง	<i>Albizia odoratissima</i> Benth.	เปลือก	น้ำตาล

ตาราง 1.2 สัตว์ชนิดจากพืชและสัตว์⁽⁶⁾ (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อทางการ	ชื่อพฤกษศาสตร์	ส่วนที่ให้สี	สี
16	แคขาว	<i>Dolichandrone rheedii</i> Seem.	ใบ	เขียว
17	เคี่ยม	<i>Cotylelobium melanoxylo</i> Pierre.	เปลือก	น้ำตาลดำ
18	คำป่า	<i>Mallotus philippinensis</i> Muell Arg.	ราก ดอก	แดง
19	คำฝอย	<i>Carthamus tinctorius</i> Linn.	ดอก	แดง
20	คำแสด	<i>Bixa orellana</i> Linn.	เมล็ด	แสด
21	แฉลบแดง	<i>Acacia leucophloea</i> Willd.	เนื้อไม้	แดงน้ำตาล
22	ตะขบไทย	<i>Flacaurtia cataphracta</i> Roxb.	ใบ	เขียวขี้ม้า
23	ตะโกนา	<i>Diospyros retrofracta</i> Bakh.	ลูก	น้ำตาล
24	ต้นเต้าตัน	<i>Diospyros ehortoides</i> wa;; Ex. G. Don.	ผล	ดำ
25	ควั่น	<i>Cratoxylum formosum</i> (Jack) Byer.	เปลือก	น้ำตาลเข้ม
26	ทองกวาว	<i>Butea monosperma</i> O. Ktze.	ดอก	เหลือง
27	ทับทิม	<i>Punica granatum</i> Linn.	เปลือกผล	เขียว
28	เทียนกิ่ง	<i>Lawsonia inermis</i> Linn.	ใบ	ส้มแดง
29	นนทรี	<i>Peltophorum pterocarpum</i> Back.ex Heyne.	เปลือก	น้ำตาลเหลือง
30	นมแมว	<i>Uvaria kurzii</i> King	เปลือก	น้ำตาล
31	ประดู่	<i>Pterocarpus macrocarpus</i> Kurz.	แก่น	แดง
32	ประสัก	<i>Bruguiera gymnorrhiza</i> Lamk.	เปลือก	น้ำตาลแดง
33	โปรงขาว	<i>Cerops decandra</i> Ding Hou.	เปลือก	น้ำตาล
34	ฝาง	<i>Caesalpinia sappan</i> Linn.	แก่น	แดง
35	ฝาดแดง	<i>Lumnitzera littorea</i> (Jack) Voigt.	เปลือก	สีอิฐ
36	พะยอม	<i>Shorea roxburghii</i> G. Don.	เปลือก	น้ำตาลส้ม
37	พุด	<i>Gardenia cickubsae</i> Craib.	เนื้อไม้	เหลือง
38	พุดซ้อน	<i>Ervatamia coronaria</i> Shapf	เมล็ด	แดง
39	เพกา	<i>Oroxylum indicum</i> Vent.	เปลือก	กากี
40	มะกัลดัน	<i>Adenantha pavonina</i> Linn.	เนื้อไม้	แดง
41	มะกิม	<i>Canarium kerrii</i> Craib.	ผล	ดำ
42	มะเกลือ	<i>Diospyros mollis</i> Griff.	ผล	ดำ
43	มะขามไทย	<i>Tamarindus indica</i> Linn.	ใบ	เหลือง
44	มะขามป้อม	<i>Phyllanthus emblica</i> .	เปลือกใบ	น้ำตาลเหลือง

ตาราง 1.2 สัตว์เศรษฐกิจจากพืชและสัตว์⁽⁶⁾ (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อทางการ	ชื่อพฤกษศาสตร์	ส่วนที่ให้สี	ส่วนที่ให้สี
45	มะคะจีหนอน	<i>Garcinia thorelii</i> Pierre.	ยาง	เหลือง
46	มะตูม	<i>Aegle marmelos</i> Corr.	เปลือกผลดิบ	เหลือง
47	มะพลับ	<i>Dispyros embryopteris</i>	ลูก	น้ำตาล
48	มะพุด	<i>Garcinia vilersiana</i> Pierre.	เปลือก	เหลือง
49	มะยมป่า	<i>Ailanthus triphysa</i> Alston.	ใบ	ดำ
50	มะหาด	<i>Artocarpus lakoocha</i> Roxb.	เปลือก	น้ำตาลเหลือง
51	มังคุด	<i>Garcinia mangostana</i> Linn.	เปลือกผล	เหลือง
52	เม็ก	<i>Macranga tanarius</i> Mrell. Arg.	ใบ	น้ำเงิน
53	ยมหอม	<i>Toona ciliata</i> Roxb.	ดอก	สีแดง
54	ขอบ้าน	<i>Morinda citrifolia</i> Linn.	ราก เปลือก เนื้อไม้	เหลือง
55	ขอป่า	<i>Morinda coreia</i> Ram.	ราก เปลือก เนื้อไม้	แดง
56	ยูคาลิปตัส	<i>Eucalyptus camaldulensis</i> Behnh.	ใบ	เหลือง
57	รง	<i>Garcinia hanburyi</i> Hook. F.	ยาง	เหลือง
58	รกฟ้า	<i>Terminatia alata</i> Heyne ex Roth.	เปลือก	ดำ
59	เล็บรอก	<i>Toddalia asiatica</i> Lamk.	ราก	เหลือง
60	เลี่ยน	<i>Melia azedarach</i> Linn.	ใบ	เขียว
61	สนทะเล	<i>Casuarina equisetifolia</i> J.R. Forst.	เปลือก	น้ำตาลแดง
62	สมอไทย	<i>Terminalia chebula</i> Retz.	เปลือก ผล	ดำ
63	สมอพิเภก	<i>Terminalia bellerica</i> Roxb.	เปลือก ผล	เขียวขี้ม้า
64	สมอหิน	<i>Vitex pubescens</i> Vahl.	ลูก	ดำ
65	สะเดา	<i>Azadirachta indica</i> Juss. Var. <i>siamensis</i> Valeaton	เปลือก	แดง
66	สัก	<i>Tectona grandis</i> Linn.f.	ใบอ่อน แก่น	แดง
67	สับปะรด	<i>Ananas bracteatus</i> Schult. F.	ใบอ่อน	เขียว
68	สีทับ	<i>Carallia lucida</i> Roseb	ลูก	ดำ
69	สีเสียด	<i>Acacia catechu</i> willd.	เนื้อไม้	น้ำตาล
70	สุพรรณิการ์	<i>Cochlospermum religiosum</i> (L.) Alston	แก่น	เหลือง
71	แสมดำ	<i>Avicennia officinalis</i> Linn.	เปลือก	น้ำตาลแดง

ตาราง 1.2 สีสรรษชาติจากพืชและสัตว์⁽⁶⁾ (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อทางการ	ชื่อพฤกษศาสตร์	ส่วนที่ให้สี	ส่วนที่ให้สี
72	เสนียด	<i>Adhatoda vasica</i> (L.) Nees	ใบ	เหลือง
73	หม่อน	<i>Morus alba</i> Linn.	แก่น	เหลือง
74	หมาก	<i>Areca catechu</i> Linn.	ลูก	น้ำตาล
75	หว่า	<i>Eugenia cumini</i> (L.)Druce	ลูก	ม่วงอ่อน
76	ห้อม	<i>Strobilanthes flaccidifolia</i> Nees	ใบ	น้ำเงิน
77	หูกวาง	<i>Termialia catappa</i> Linn.	ใบแก่	เขียวขี้ม้า
78	อ้อยช้าง	<i>Lannea coromandelica</i> Merr.	เปลือก	น้ำตาล
79	ฮ่อม	<i>Baphicacanthus cusia</i> Brem	ใบ	น้ำเงิน
80	ครั่ง	<i>Laccifer lacca</i> Kerr.	ตัวแมลง	แดง

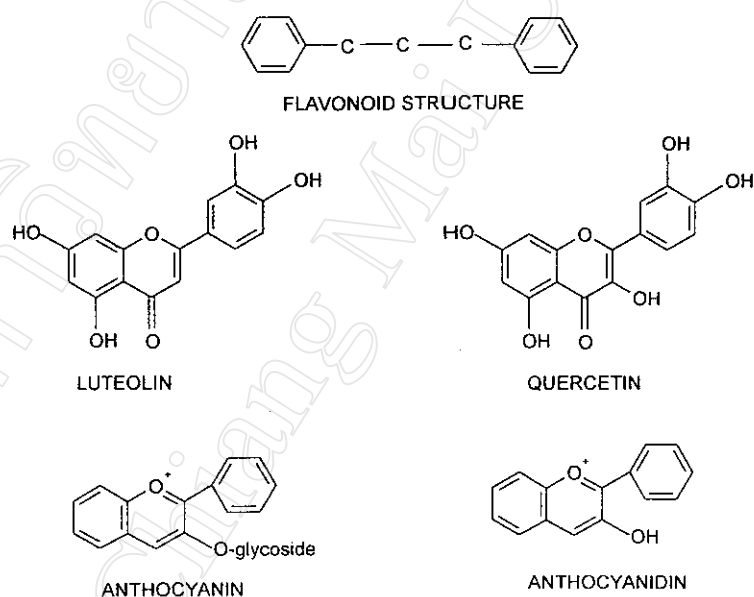
จากต้นไม้ 80 ชนิดที่มีการนำมาใช้ย้อมสีในตารางที่ 2 ยังมีการนำต้นไม้อื่นๆมาผสมกันเพื่อให้เกิดเฉดสีเพิ่มมากขึ้น เช่น แก่นแกลกับต้นครามให้สีเขียว ใบแคสดกับขมิ้นผงให้สีทองอ่อน⁽⁷⁾ ผลหมากสุกกับแก่นแกลให้สีทึบเข้มเหลือง ใบส้มป่อยกับขมิ้นให้สีเขียว⁽⁸⁾ เป็นต้น

1.3.2.1 สารเคมีในสีธรรมชาติ

สารที่ให้สีจากธรรมชาติจัดประเภทตามลักษณะโครงสร้างดังนี้^(9,10)

ก. ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นกลุ่มสารให้สีที่ใช้เป็นสีย้อมกันมาก มักมีสีเหลืองถึงส้มเหลือง มีสูตรโครงสร้างทั่วไปเป็น $C_6-C_3-C_6$ ตัวอย่างเช่น Rutin Quercetin Luteolin ซึ่งให้สีเหลือง (รูป 1.1) ส่วนที่เป็น C_6 ส่วนมากเป็นวงเบนซีน และ C_3 จะต่อกับอะตอมของออกซิเจนเกิดเป็นวงวิวิธพันธ์ (heterocyclic ring) ถ้ามีหมู่คาร์บอนิลอยู่ที่วงวิวิธพันธ์เกิดเป็นสารประกอบฟลาโวน(flavone) และถ้ามีหมู่ไฮดรอกซีอยู่ที่วงวิวิธพันธ์เกิดเป็นสารประกอบฟลาโวนอล(flavonol) สารในกลุ่มนี้จะละลายได้ดีในน้ำมีการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นแตกต่างกันมากมาย ทำให้เห็นเป็นทุกสียกเว้นสีเขียว เช่นสารพวกแอนโทไซยานินจะให้สีม่วง สีน้ำเงินและสีแดง มักพบในพืชชั้นสูง ในรูปของสารประกอบกับโคไฮไซด์(glycoside) เมื่อสลายตัวด้วยน้ำจะให้น้ำตาล และส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลเรียกว่าแอนโทไซยานิดิน(anthocyanidin) ในธรรมชาติมักพบในรูปกับโคไฮไซด์ซึ่งมีน้ำตาลมาเกาะที่ตำแหน่ง C_3 หรือ C_5 และยังพบเป็นจำนวนมากที่น้ำตาลมาเกาะทั้งสองตำแหน่งได้เป็น 3,5-diglucosides ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะไม่พบในฟลาโวนอยด์ชนิดอื่นๆ สีแดงในดอกไม้บางชนิดไม่ใช่สารแอนโทไซยานิน แต่เป็นเบต้าไซยานิน(betacyanins) เช่น สีแดงของดอกเฟื่องฟ้า หงอนไก่ บานเย็น และหัวบีทรูท ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Nyctaginaceae,

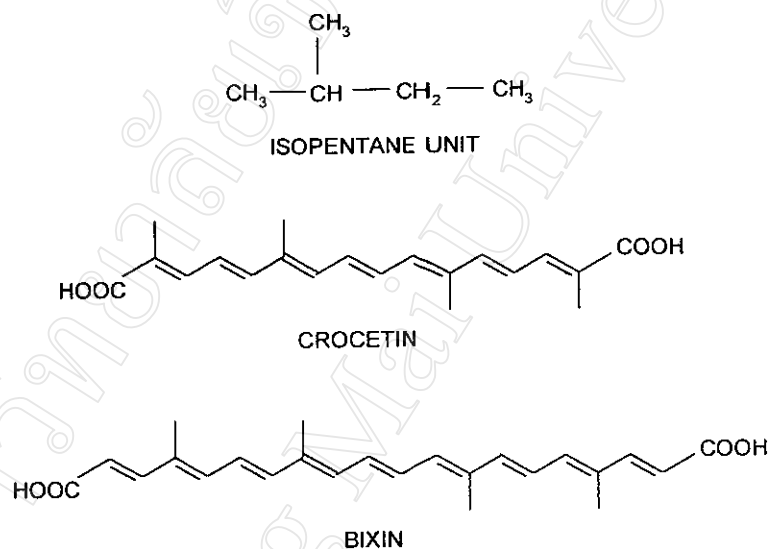
Amaranthaceae และ Centrospermae เป็นต้น สีแดงของแอนโทไซยานินจะมีคุณสมบัติเป็น indicator ในตัวเอง ทั้งนี้เพราะแอนโทไซยานินมีลักษณะเป็นประจุ(ionic) สีที่เกิดขึ้นอยู่กับ pH ของสารละลาย ในสารละลายที่เป็นกรดแอนโทไซยานินจะให้สีแดงปนส้ม ในสารละลายที่เป็นกลางจะอยู่ในสภาพ pseudobase ซึ่งไม่มีสี ในด่างจะอยู่ในสภาพ anhydrobase ซึ่งให้สีม่วง-น้ำเงิน เมื่อ pH เปลี่ยนปฏิกิริยาเหล่านี้จะเปลี่ยนกลับไปกลับมาได้ แต่ถ้า pH สูงมากๆปฏิกิริยาก็จะไม่เปลี่ยนกลับมา แอนโทไซยานินในสารละลายที่เป็นด่างจะถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายโดยอากาศและถูกทำลาย จึงมักทำให้สารละลายอยู่ในภาวะที่เป็นกรด แอนโทไซยานินชนิดต่างๆ จะต่างกันที่กลุ่ม OH บน ring B ทำให้สีแตกต่างกันที่สำคัญ แอนโทไซยานินอาจถูก methylated ที่ตำแหน่ง 3' และ 5' มีผลทำให้ความแดงของสีเพิ่มขึ้น ในทางตรงข้ามการเติมกลุ่มไฮดรอกซิล (-OH) จะเพิ่มความเป็นสีน้ำเงินมากยิ่งขึ้น ส่วนสารพวกฟลาโวนและฟลาโวนอล จะให้สีเหลืองมักพบในพืชบางชนิดและในกลีบของดอกไม้



รูป 1.1 โครงสร้างของสารให้สีกลุ่มฟลาโวนอยด์บางชนิด

ข. คารอติโนอยด์ (Carotenoid) เป็นสารประกอบลิพิดชนิดหนึ่งที่เรียกว่า เทอร์ปีน (terpene) เมื่อมีออกซิเจนในโมเลกุลด้วยเรียก เทอร์ปีนอยด์ (terpenoid) หรือ ไอโซพรีนอยด์ (isoprenoid) สารในกลุ่มนี้มีชีวสังเคราะห์มาจากหน่วยไอโซเพนเทน (isopentane unit, C_5) เช่น crocetin จากหญ้า ฝรั่ง (saffron) มีสีเหลือง บิกซิน (Bixin) จากเมล็ดคัมเบอร์ให้สีส้ม-แดง สารใน

กลุ่มนี้จะมีพันธะคู่สลับกับพันธะเดี่ยวมาก (รูป 1.2) บีกชินเป็นผลึกสีน้ำตาลแดง ก่อนข้างคงตัวต่อแสง ต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน ต่อกรดและด่างรวมทั้งเชื้อจุลินทรีย์ สารประกอบคาโรทีนอยด์อีกชนิดหนึ่งคือ β -carotene ซึ่งสามารถสังเคราะห์ได้เป็นครั้งแรกในระดับอุตสาหกรรมเป็นสารที่มีคุณค่าทางอาหารเนื่องจากเอนไซม์ในตับจะเปลี่ยนเบต้า-คาโรทีนเป็นวิตามินเอ เบต้า-คาโรทีนเป็นสารที่มีผลึกสีม่วงปนแดงไม่ละลายน้ำ เอทานอล กลีเซอริน ละลายได้น้อยในตัวทำละลายอินทรีย์ ไม่คงตัวต่อด่าง อากาศ แสง และอุณหภูมิสูงๆ ประมาณ 45°C จะถูกทำลายภายใน 6 สัปดาห์ ส่วน lycopene เป็นเตตระเทอร์ปีน (tetraterpene) ที่มีสีแดง

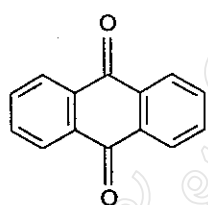


รูป 1.2 โครงสร้างสารให้สีกลุ่มคาโรทีนอยด์บางชนิด

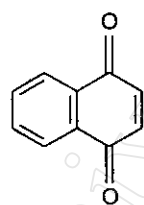
ค. แอนทราควิโนนและแนฟโทควิโนน (Anthraquinones and Naphthoquinones)

สารในกลุ่มนี้มักจะให้สีแดง ในกลุ่มสารพวกแอนทราควิโนนที่นำมาใช้เป็นสีย้อม ได้แก่ alizarin จากรากต้นไม้จำพวกเข็ม (madder) และจากแก่นของต้นข่อย กรดแลคเคอิก (Laccaic acid) ได้จากครั่ง ส่วนพวกแนฟโทควิโนนจากเปลือกมันฮ่อให้สีเขียวถึงน้ำตาล Lawsone จากใบเทียนกิ่งให้สีน้ำตาลปนแดงและ Alkanin จากต้น alkanet ให้สีแดง (รูปที่ 1.3) สารกลุ่มแอนทราควิโนนมีสูตรโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วย 3-ring system เป็นสารที่มีสีแดง-ส้ม แต่อาจพบได้ตั้งแต่สีเหลือง-น้ำตาล แอนทราควิโนนละลายได้ดีในน้ำค้างให้สีชมพู-แดง ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอล เบนซีน อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม สารแอนทราควิโนนเกือบทุกตัวมีจุดหลอมเหลวสูง ที่พบในพืชชั้นสูงส่วนใหญ่จะถูก hydroxylate ที่ C-1 และ C-2 ในธรรมชาติจะพบแอนทราควิโนนใน

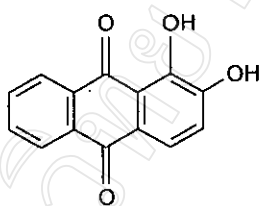
รูปของกลัยโคไซด์เป็นส่วนใหญ่และมักพบเป็นชนิด O-glycoside ส่วนน้อยที่พบเป็น C-glycoside เช่น aloin (barbaloin) น้ำตาลที่พบส่วนมากเป็น glucose, primeverose อาจพบ rhamnose ได้บ้าง แอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ที่พบอาจจะมี aglycone เป็น reduced form ของแอนทราควิโนนได้ออนุพันธ์ของแอนทราควิโนนซึ่งพบได้หลายแบบทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับอายุของพืชเช่นใน common rhubarb ในใบอ่อนจะพบ anthranol glycoside เป็นส่วนใหญ่ ในใบแก่จะพบเป็นกลัยโคไซด์ของแอนทราควิโนน นอกจากนี้จุลินทรีย์ที่เป็นราพวก *Monascus purpureus* สามารถผลิตสารสีแดงในกลุ่มแอนทราควิโนนได้และใช้เป็นสีผสมอาหาร เช่น หมูแดง เต้าหู้ยี้ เหล้า ไวน์ เป็นต้น



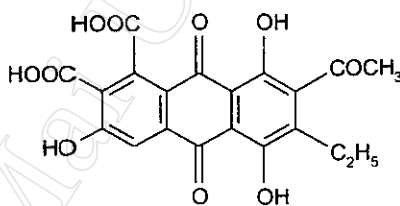
ANTHRAQUINONE



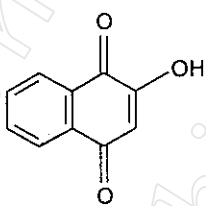
NAPHTHROQUINONE



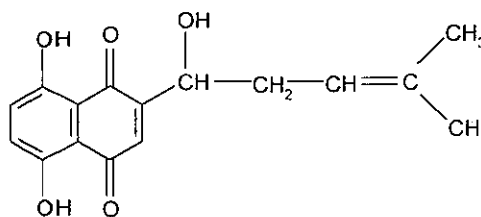
ALIZARIN



LACCAIC ACID



LAWSONE

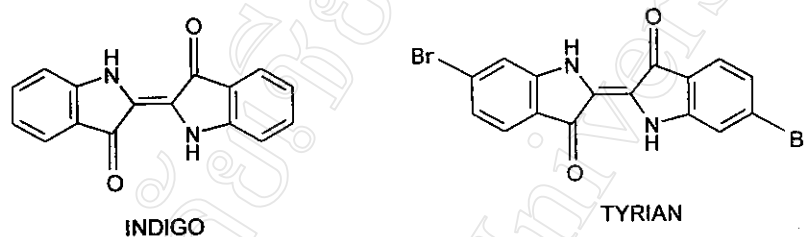


ALKANIN

รูป 1.3 โครงสร้างของสารให้สีพวกแอนทราควิโนนและแนฟโทควิโนน

ง. อัลคาลอยด์ (Alkaloids) อัลคาลอยด์เป็นสารกลุ่มที่พบในพืชชั้นสูง พบบ้างในพืชชั้นต่ำ ในสัตว์และในจุลินทรีย์ เป็นกลุ่มสารที่นำมาใช้มากเพื่อเป็นยารักษาโรคและมีจำนวนไม่น้อยที่เป็นสารพิษปัจจุบันพบอัลคาลอยด์มากกว่า 5,000 ชนิด ตามปกติในโมเลกุลของอัลคาลอยด์จะพบไนโตรเจนอยู่ 1 ตัว แม้ไนโตรเจนจะอยู่ใน heterocyclic ring หรืออยู่ใน side chain ก็ตาม จะทำให้อัลคาลอยด์มีคุณสมบัติเป็นด่าง ไนโตรเจนดังกล่าวอาจจะอยู่ในรูปของ

primary amine (RNH_2), secondary amine (R_2NH), tertiary amine (R_3N), quaternary ammonium salt ($\text{R}_4\text{N}^+\text{X}^-$), amine oxide และยังสามารถพบอยู่ในรูปของ amide และ imide อีกด้วย อัลคาลอยด์แต่ละชนิดจะมีความเป็นกรดต่างมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับจำนวนอะตอมของไนโตรเจนในโมเลกุล ประเภทของ amine group ตลอดจน ชนิดและจำนวนของ functional group ที่มีอยู่ในโมเลกุลนั้น สารกลุ่มอัลคาลอยด์ที่ใช้เป็นสีย้อมได้แก่ Indigo สียากต้นคราม ส้อมให้สีน้ำเงิน Tyrian เป็นสีที่สกัดได้จากหอยสังข์หนาม (shelfish) อยู่ตามแถบทะเลเมดิเตอร์เรเนียนจะให้สีม่วงแดง (รูป 1.4)

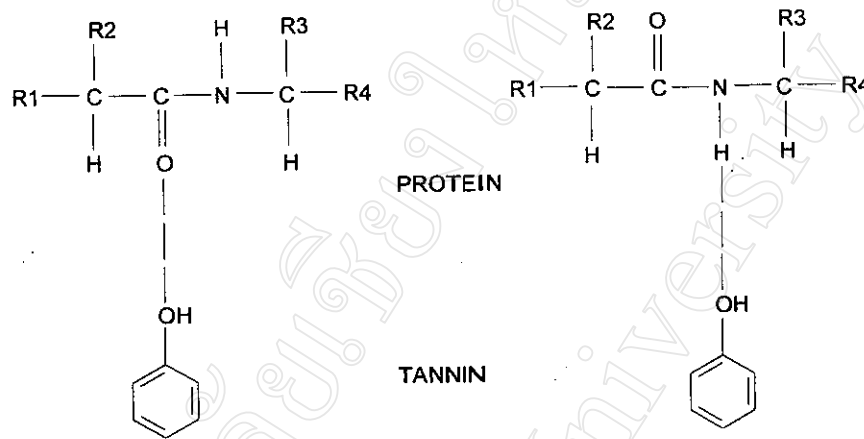


รูป 1.4 โครงสร้างของสารให้สีในกลุ่มอัลคาลอยด์บางชนิด

จ. แทนนิน (Tannin) เป็นสารให้สีธรรมชาติที่นิยมใช้เป็นสารช่วยติดสีอื่นๆด้วย ในการย้อมสีธรรมชาติโดยเฉพาะการย้อมผ้า แทนนินเป็นสารจำพวกสารประกอบพอลิฟีนอลิก และเป็นกลุ่มสารที่พบได้ทั่วไปในพืชเกือบทุกชนิดมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 500-3,000 และมีหมู่ฟีนอลิกที่อิสระอยู่จำพวกหนึ่งซึ่งสามารถทำให้เกิดการเชื่อมโยงได้กับพวกโปรตีน (รูป 1.5) และพวกโพลีเมอร์ ทางชีวภาพ (biopolymer) เช่น เซลลูโลสได้อย่างคงตัวจะเห็นได้ว่าแทนนินมีโครงสร้างซับซ้อนและมีโมเลกุลใหญ่จึงแยกได้ยากเนื่องจากไม่แตกผลึกส่วนใหญ่พบอยู่ในรูปของ กลัยโคไซด์ (glycoside) แทนนินละลายได้ในน้ำ สารละลายต่างเจือจาง แอลกอฮอล์ อะซิโตน สารละลายของแทนนินสามารถตกตะกอนโลหะหนัก อัลคาลอยด์ กลัยโคไซด์ โปรตีนและ เจลาตินได้ เมื่อทำปฏิกิริยากับเกลือของเหล็กเช่น เฟอริกคลอไรด์ แทนนินชนิดสลายตัวได้จะให้ตะกอนสีน้ำเงิน-ดำ ส่วนแทนนินชนิดรวมตัวแน่นจะให้ตะกอนสีน้ำตาลเขียวจึงใช้ปฏิกิริยานี้ตรวจสอบชนิดของแทนนินในสารสกัดจากพืชได้ จากลักษณะโครงสร้างทางเคมีสามารถแบ่งแทนนินได้ 2 ประเภทคือ

จ1. Hydrolysable tannin เป็นกลุ่มสารประกอบ polyester ซึ่งเกิดจาก polyphenol กับน้ำตาลกลูโคสซึ่งแทนนินประเภทนี้สามารถถูกเอนไซม์และกรดไฮโดรไลซ์ออกเป็นโมเลกุลได้ gallic acid, digallic acid, ellagic acid เช่น Gallotanin และ Ellagitannin เป็นต้น

๒2. Condensed tannin เป็นกลุ่มสารประกอบที่เมื่อถูกกรดหรือเอนไซม์แล้วไม่สลายตัวเป็นโมเลกุลเล็กๆ แต่กลับรวมตัวเป็นโพลีเมอร์เกิดเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำไม่มีรูปร่างแน่นอนและมีสีแดงซึ่งจะประกอบไปด้วยโพลีเมอร์ของ flavan-3-ol และ flavan-3,4- diols



รูป 1.5 การเชื่อมโยงระหว่างโปรตีนกับแทนนิน

นอกจากจะแบ่งแทนนินตามลักษณะโครงสร้างแล้วยังสามารถแบ่งตามน้ำหนักโมเลกุลของแทนนินซึ่งสามารถแบ่งได้ 2 กลุ่มคือ True tannin มีน้ำหนักโมเลกุล 1,000-5,000 และ Pseudo tannin มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า True tannin แต่เป็นสารที่ให้คุณสมบัติคล้าย True tannin ได้แก่ catechin, chlorogenic acid เป็นต้น

1.3.2.2 คุณค่าของสีธรรมชาติ⁽⁵⁾

โดยทั่วไปคุณค่าประโยชน์ในการย้อมสีธรรมชาติที่สำคัญประกอบด้วย

ก.ปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภคเพราะสีธรรมชาติไม่มีองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพไม่มีไอระเหยระคายเคืองผิวหนังให้ระคายเคืองหรืออับเสบนอกจากนั้นสีธรรมชาติบางชนิดยังเป็นยาสมุนไพรที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น มะเกลือ สะเดา ผางและลิ้นฟ้า เป็นต้น

ข. ประหยัดการใช้สีจากต่างประเทศ ช่วยลดการขาดดุลการค้าของต่างประเทศ

ค. สามารถใช้วัตถุดิบในท้องถิ่นให้เป็นประโยชน์

ง. สร้างความตระหนักในการอนุรักษ์ต้นไม้และสิ่งแวดล้อมกล่าวคือทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภคจะเห็นคุณค่าของต้นไม้เพิ่มมากขึ้นเพราะต้นไม้นอกจากนำมาทำเป็นอาหาร ยารักษาโรคที่อยู่อาศัยและเชื้อเพลิงแล้วต้นไม้ยังนำมาใช้ย้อมสีได้อีกด้วย

จ. พื้นฟูและอนุรักษ์องค์ความรู้อันเป็นมรดกของประชาคมโลกมิให้สูญหายไป

1.3.2.3 ข้อจำกัดของสีธรรมชาติ⁽⁵⁾

ในการย้อมสีธรรมชาตินี้ยังมีข้อจำกัดที่ผู้ผลิตจะต้องคำนึงถึงอยู่อาทิเช่น

ก. วัตถุดิบในการย้อมสีธรรมชาตินั้นนับวันจะมีจำนวนน้อยลงยิ่งถ้าผู้ผลิตไม่ปลูกทดแทนก็จะหมดไปในที่สุดและถึงแม้จะมีการปลูกทดแทนก็จำเป็นต้องใช้เวลาช่วงหนึ่งไม่น้อยกว่า 4-5 ปี ดังนั้นการจัดหาวัตถุดิบจำนวนมากๆมาใช้ในการย้อมสีธรรมชาติจึงทำได้ยาก

ข. คุณภาพของสีเช่น ค่าความคงทนต่อแสง ความคงทนต่อการซัก การขัดถูนั้นอยู่ระหว่างขั้นต่ำถึงดี

ค. การย้อมซ้ำให้ได้สีเหมือนเดิมของสีธรรมชาติบางครั้งกระทำได้ยากเพราะวัตถุดิบที่นำมาใช้ย้อมนั้นสามารถควบคุมได้ยากเนื่องจากวัตถุดิบขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ดิน ไม้ต้นเดียวกันในฤดูร้อนและฤดูฝนจะให้สีที่แตกต่างกัน หรือต้นไม้ประเภทเดียวกันอายุไร่เรียกกันแต่ขึ้นอยู่คนละพื้นที่ก็อาจจะมีสีต่างกัน เป็นต้น

ง. วัตถุดิบในการย้อมสีบางสีหายากหรือเทคนิคการย้อมสีบางสีนั้นยากเช่น สีดำจากมะเกลือ สีน้ำเงินจากต้นครามและสีแดงจากครั่ง ผู้ผลิตต้องมีความรู้และความชำนาญเฉพาะสีนั้นๆซึ่งผู้ผลิตทั่วไปไม่สามารถทำได้ ในกรณีเช่นนี้ผู้ผลิตบางรายก็จะหันไปใช้สีสังเคราะห์ที่ให้ผลกระทบกับสิ่งแวดล้อมน้อย (Low impact chemical dyes) ซึ่งปัจจุบันได้มีการผลิตและจำหน่ายกันแพร่หลายกันมากขึ้น สีสังเคราะห์ดังกล่าวไม่มีสาร azo ที่เป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งจึงเป็นสีสังเคราะห์ที่ปลอดภัยแต่การใช้สีสังเคราะห์ที่ให้ผลกระทบน้อยนี้จะต้องมีการบำบัดน้ำเสียอย่างถูกวิธีด้วยเช่นกัน

จ. การย้อมสีธรรมชาติมีหลายขั้นตอนและต้องใช้เวลาจากผู้ผลิตจึงต้องเป็นผู้ที่มีความอดทน ปรานีและละเอียดถี่ถ้วน และประเด็นสำคัญคือการย้อมสีธรรมชาติต้องใช้พลังงานจากเชื้อเพลิงจำนวนมากจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาและค้นคว้าการใช้พลังงานอย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน

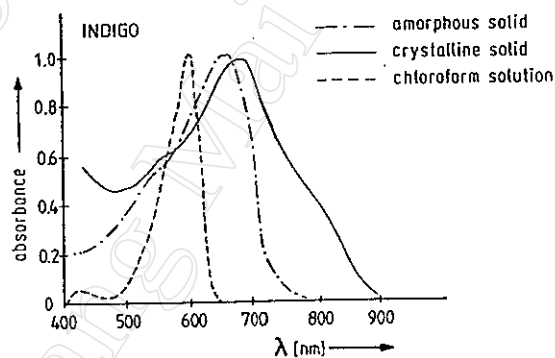
1.4 อินดิโก

อินดิโกเป็นสารประเภทอัลคาลอยด์จัดเป็นสีย้อมแปลงรูป (vat dye) ชนิดหนึ่ง นิยมใช้สำหรับย้อมผ้าฝ้ายหนาๆให้เป็นสีน้ำเงินนอกจากนี้ยังสามารถย้อมเส้นไหมได้อีกด้วย อินดิโกมีโครงสร้างเป็น ทรานไอโซเมอร์ทั้งในสภาวะที่เป็นของแข็งและสารละลาย การที่อินดิโกมีสมบัติเป็นโพลิเมอร์และมีขั้วสูงทำให้มีความสามารถในการละลายไม่ดีและมีจุดหลอมเหลวสูงคือ 390-392 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามสามารถสกัดก่อนผลิตอินดิโกได้โดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วและมีจุดเดือดสูงเช่น ไนโตรเบนซีน และ อะนิลีน จะได้ผลิตภัณฑ์สีแดงเหลืองทองแดง

สีของอินดิโกขึ้นอยู่กับสถานะแวดล้อมเช่น เป็นสีแดงเมื่อกลายเป็นไอ เป็นสีม่วงเมื่อละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วและเป็นสีน้ำเงินในสถานะของแข็งหรือละลายในตัวทำละลายที่มีขั้ว ดังแสดงในตาราง 1.3 และรูป 1.6^(11,12,13,14)

ตาราง 1.3 Influence of solvent on absorption

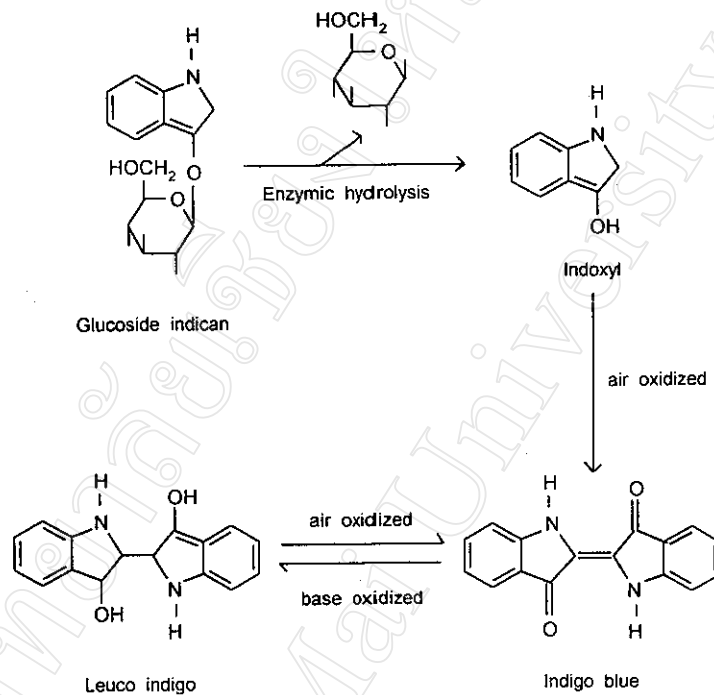
Compound	Solvent	Dielectric constant (20°C)	λ_{max} (nm)
Indigo	Vapour	-	540
	Carbontetrachloride	2.2	588
	Xylene	2.3-2.6	591
	Ethanol	24.3	606
	Dimethylsulphoxide	46.3 (25°C)	620
	Solid, in KBr	-	660



รูป 1.6 กราฟการดูดกลืนแสงของ indigo ใน chloroform และ amorphous และ crystalline solid state⁽¹³⁾

ในประเทศไทยอินดิโกจากธรรมชาติได้มาจากการหมักพืช เช่น คราม (*Indigofera tictiria* Linn.) และช่อม (*Baphicacanthus cusia* Brem.) พืชประเภทนี้จะมีอินดิแคนซึ่งเป็นสารกลูโคไซด์ตัวหนึ่ง เมื่ออินดิแคนถูกไฮโดรไลสจะกลายเป็นอินดอกซิลซึ่งเป็นบรรพสารที่ไม่มีสีของอินดิโก ในกระบวนการย้อมสีแปดรูปสีจะถูกแปลงให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ก่อนนำไปย้อมผ้าจากนั้นจะทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีเพื่อเปลี่ยนให้กลับมามีสีในรูปที่ไม่ละลายน้ำตามเดิม ในกรณีของอินดิโกก่อนนำไปใช้ย้อมสีจะถูกรีดิวซ์ให้อยู่ในรูปลิวโค (Leuco form) หมายถึงรูปที่ไม่มีสีซึ่งละลายน้ำได้

จากนั้นเมื่อโดนกับอากาศจะถูกออกซิไดซ์กลับคืนเป็นสีน้ำเงินที่ไม่ละลายน้ำ⁽¹⁵⁾ ดังแสดงในรูป 1.7



รูป 1.7 แสดงขั้นตอนการเกิดสีอินดิโก

ปัจจุบันนี้การย้อมสีอินดิโกจากธรรมชาติมีเหลืออยู่เพียงบางแห่งเท่านั้นเช่นที่จังหวัดแพร่ สุรินทร์ อุรธานี กาฬสินธุ์ สกลนครและเชียงใหม่ ถิ่นที่ยังมีการย้อมอินดิโกอยู่นี้จะเป็นถิ่นที่อยู่ไกลความเจริญหรือบางถิ่นเป็นที่ซึ่งมีการทอดผ้าย้อมสีอินดิโกขาย^(16,17) การย้อมสีอินดิโกได้เริ่มหายไปนั้นมีสาเหตุมาจาก

ก. การย้อมสีอินดิโกเป็นสีที่ยู่ยากซับซ้อนมีขั้นตอนมาก ผู้ย้อมต้องอาศัยประสบการณ์ในการสังเกตและเอาใจใส่หม้ออินดิโกมาก จึงพบว่าในหมู่บ้านหนึ่งๆมีช่างทำอินดิโกอยู่เพียง 1 หรือ 2 คนเท่านั้น

ข. การถ่ายทอดความรู้ในการย้อมสีอินดิโกมักจะถ่ายทอดกันตามสายโลหิตจากแม่สู่ลูก จากยายสู่หลาน จึงทำให้การย้อมสีอินดิโกไม่แพร่กระจายไปมากนัก

ค. ผู้ที่ข้อมอินดิโกจะมีมือสีคล้ำเหมือนสีอินดิโกและเนื่องจากอินดิโกมีกลิ่นซึ่งบางคนกล่าวว่า เป็นกลิ่นเหม็นแต่บางคนก็ว่าหอม จากมือที่เปื้อนสีล้างออกยากและกลิ่นของอินดิโกนี้เอง ทำให้มีผู้นิยมทำหม้ออินดิโกน้อยลง

ง. มีความเชื่อมากมายเกี่ยวกับสีอินดิโก เช่น ถูกกล่าวว่าเป็นสิ่งมีชีวิตบ้างหรือมีความเชื่อว่า ผู้ที่ข้อมสีอินดิโกนั้นเมื่อแก่ลงจะกลายเป็นผีปอบ จากความเชื่อเหล่านี้ทำให้มีผู้นิยมทำอินดิโกน้อยลง

จ. การข้อมสีอินดิโกเริ่มหมดไปเนื่องจากเหตุผลของการพัฒนาและมีการผลิตสีสังเคราะห์มากขึ้นทำให้สามารถเลือกใช้สีได้ตามความต้องการและสะดวกกว่าการใช้สีอินดิโกจากธรรมชาติ

1.4.1 แหล่งของสีอินดิโกในธรรมชาติ ^(18,19,20)

อินดิโกจากธรรมชาติได้จากการสกัดจากพืช เช่น *Baphicacanthus cusia* Brem. (Acanthaceae), *Indigofera tinctoria* Linn. (Papilionaceae), *Indigofera suffruticosa* Mill. (Papilionaceae), *Polygonum tinctorium* Ait. (Polygonaceae), *Isatis indigotica* Fort. (Brassicaceae) เป็นต้น ในการวิจัยนี้ได้ทำการสกัดอินดิโกจากพืช 2 ชนิด คือ *Baphicacanthus cusia* Brem. และ *Indigofera tinctoria* Linn. เพราะมีมากในภาคเหนือของไทย

ก. *Baphicacanthus cusia* Brem. หรือ ห่อม ส่วนที่ให้สีคือใบ เป็นไม้พุ่มลำต้นตั้งตรงมีกิ่งก้านสาขา ใบเดี่ยวเรียงตรงข้ามรูปวงรีขอบใบหยักฟันเลื่อยละเอียด ดอกช่อออกที่ซอกใบมีดอกย่อยหลายดอก กลีบดอกสีม่วงเชื่อมติดกันเป็นหลอดโค้งงอเล็กน้อย มีลำต้นสูงประมาณ 50 – 100 เซนติเมตร ขยายพันธุ์ด้วยลำต้นตามลำต้นมีข้อแก่ตัดนำไปปักไว้ในดินทุก ข้อจะงอกราก ห่อมมีอายุไม่แน่นอนแล้วแต่ดินฟ้าอากาศในสถานที่นั้น ถ้าอยู่ในที่ที่ร่มเย็นมีน้ำซึมขึ้นอยู่เสมอจะอยู่ได้ถึง 8-9 ปี ใบห่อมสามารถเก็บไปทำสีอินดิโกได้ต่อเมื่อมีอายุย่างเข้าปีที่สอง ระยะของการเก็บไม่จำกัดแล้วแต่จะออกแขนงช้าหรือเร็ว การเก็บถ้ามีมากก็หักทั้งกิ่ง ถ้ามีน้อยก็เก็บเป็นใบ ๆ

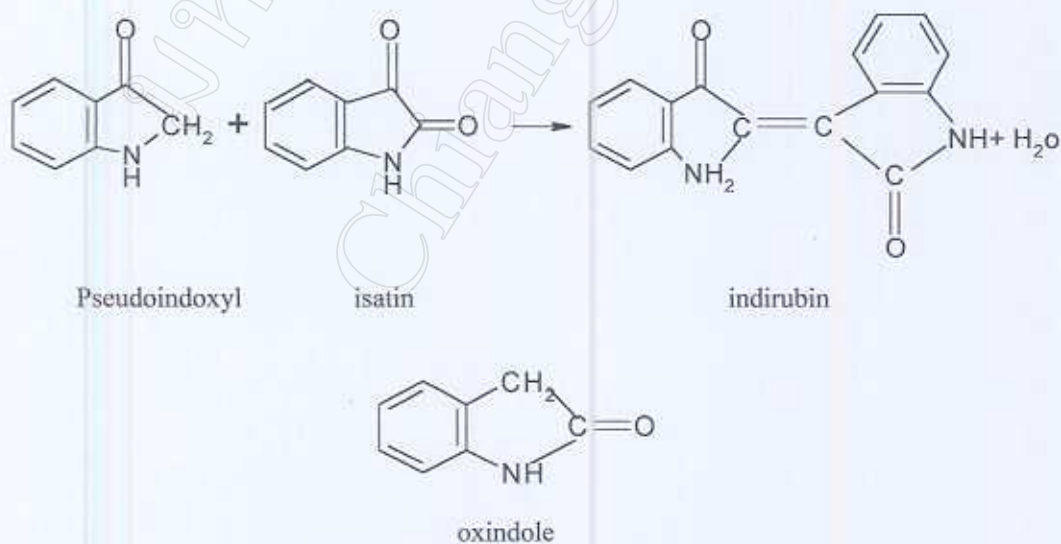
ข. *Indigofera tinctoria* Linn. หรือคราม ส่วนที่ให้สีคือใบจัดเป็นพืชล้มลุกชนิดหนึ่งอยู่ในพืชตระกูลถั่วเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก มีลำต้นสูงประมาณ 100-160 เซนติเมตร แตกกิ่งก้านสาขาเป็นพุ่มมีใบคล้ายใบแคออกดอกตามโคนก้านของใบเป็นช่อๆ โดยเฉพาะโคนก้านใบที่แตกจากลำต้น ดอกและฝักคล้ายโยน แต่มีขนาดเล็กกว่ามีสีม่วงอมชมพู เนื่องจากครามจัดอยู่ในพืชตระกูลถั่วจึงเป็นพืชที่ปลูกเพื่อบำรุงดินได้ดีอีกด้วย ครามขึ้นได้ในที่ดอนซึ่งแสงแดดส่องถึงจะปลูกในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงมิถุนายน และสามารถเก็บไปทำสีอินดิโกได้ในช่วงประมาณเดือนพฤศจิกายน



รูป 1.8 ก. คันทาราม (*Indigofera tinctoria* Linn.)

ข. คันท่อม (*Baphicacanthus cusia* Brem.)

ในการสกัดเอาอินดิโกจากพืชเหล่านี้จะได้อินดิรูบินออกมาด้วย ซึ่งมีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{16}H_{10}O_2N_2$ (ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่าง pseudoindoxyl และ isatin) มีจุดหลอมเหลว $315^{\circ}C$ มีสีแดงคลุกคลิ่นแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 551 นาโนเมตร ใน dimethylsulphoxide สีอินดิรูบินนี้ไม่สามารถใช้ในการย้อมสีผ้าได้เพราะในระหว่างการเตรียมสีย้อมจะแตกออกเป็น pseudoindoxyl กับ oxindole ใน alkaline reducing agents ซึ่ง pseudoindoxyl จะเกิดออกซิไดซ์กลับไปเป็นอินดิโกได้ ส่วน oxindole นั้นไม่ละลาย⁽²¹⁾ แสดงในรูป 1.9



รูป 1.9 แสดงขั้นตอนการเกิดสีอินดิรูบิน

ในทางการแพทย์ของประเทศจีนใช้อินดิโรบินในการรักษาโรคที่เกี่ยวกับการแข็งตัวของเลือดผิดปกติ รักษาการอักเสบและติดเชื้อจากแบคทีเรียและไวรัส นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารต้านมะเร็ง โดยจากการศึกษาพบว่า อินดิโรบินสามารถยับยั้งการเกิด Lewislung carcinoma ในหนู mice และ Walker carconosacoma 256 ในหนู rats และเมื่อให้อินดิโรบินในขนาด 300-450 มิลลิกรัมต่อวัน แก่คนไข้ที่เป็น Chronic myelocytic leukemia พบว่า 26 % ไม่ตอบสนองต่อการรักษา 33.4% ตอบสนองต่อการรักษาและเมื่อให้อินดิโรบินเป็นเวลา 1.5-6 เดือนพบว่าทำให้มีการทำงาน 5'-nucleotidase ในเม็ดเลือดขาวมากขึ้นทำให้อาการรุนแรงของโรคลดลง⁽²²⁾

1.4.2 การพัฒนางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับอินดิโก

Heumann K. (1890) ได้สังเคราะห์อินดิโกจาก anthranilic acid และ chloroacetic acid ซึ่งจะได้อินโดกซาล-2-คาร์บอกซิลิก กรดซึ่งสารตัวนี้จะเกิดปฏิกิริยาฟิวชันโดยใช้ NaOH 200-220°C กลายเป็น indoxyl-2-carboxylic acid และสารนี้จะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นอินดิโก⁽²³⁾

Pfleger J. (1901) ได้สังเคราะห์อินดิโกจาก aniline ซึ่งได้จากปฏิกิริยาระหว่าง phenylglycine และ chloroacetic acid จากนั้นเติม sodamide 190°C ลงไปเพื่อเปลี่ยนให้เป็น indoxyl ในปัจจุบันนี้ การสังเคราะห์ก็ยังใช้ปฏิกิริยานี้อยู่แต่ phenylglycine ที่เป็นสารตั้งต้นจะได้มาจากหลายวิธี⁽²⁴⁾

Kokubun T. et al. (1997) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการเกิดอินดิโรบินจาก indoxyl และ rhodanine ซึ่งมีใน *Isatis tinctoria* ในใบอ่อนพบว่า 24% ของน้ำหนักแห้งจะเป็น indoxyl-3-(5-ketogluconate) หรือ isatan B และ indoxyl 3-O- β -D-glucoside หรือ indican ในอัตราส่วน 3:1 ส่วนในใบแก่จะพบประมาณ 14% สารตั้งต้นเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยา hydrolysis กลายเป็นอินดิโกขณะเดียวกันก็มีบางส่วนที่เกิดเป็นอินดิโรบินซึ่งถ้ามีออกซิเจนมากก็จะทำให้เกิดเป็นอินดิโรบินมากไปด้วย⁽²⁵⁾

Solaiman Daniel KY. et al. (1996) ได้ศึกษาการผลิตอินดิโกใน *Streptococcus thermophilus* (ST) โดยจะทำการโคลน rhodococcal indole oxygenase gene (ido) เข้าไปใน ST 128 เนื่องจากยีนนี้จะเป็นยีนที่กำหนดการสร้างอินดิโก expression vectors ประกอบด้วย *S. thermophilus* plasmid replicon (pER8) และ promoters (sP1 และ ST_{p2201}) ซึ่งจะถูกใช้เป็น cloning vehicles การวิเคราะห์หา idogene ใน mRNA ของ ST จะทำโดยวิธี Northern blot analysis⁽²⁶⁾

Yuxing W. et al. (1998) ได้ศึกษาสาเหตุการซีดจางของสีอินดิโกสังเคราะห์ พบว่าเอนไซม์ laccase ที่ผลิตโดยเชื้อรา *Trametes versicolor* จะย่อยอินดิโกให้เป็น metabolites เล็กๆ ส่วนพวกแอนทราควิโนนจะถูกออกซิไดซ์โดยตรงแสดงว่าอินดิโกไม่ใช่ substrate ของเอนไซม์ laccase และ metabolite เล็กๆจะเข้าขวางการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสีกับเอนไซม์การซีดจางของอินดิโกจะแปรผกผันกับความเข้มข้นของ metabolite เหล่านี้⁽²⁷⁾

Maier W. et al. (1989) ได้ศึกษาการสังเคราะห์ indoxyl derivatives ใน *Isatis tinctoria* และ *Polygonum tinctorium* พบว่าเมื่อให้ L-(5-³H)tryptophan แก่พืช 2 ชนิดนี้จะตรวจพบ indoxyl derivatives ที่คิดสารเรืองแสงในลำต้นและรากโดยพืชทั้ง 2 ชนิดนี้จะเปลี่ยน (³H)-labelled tryptophan ไปเป็น indican และ isatin B ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของ indoxyl derivatives⁽²⁸⁾

Eaton RW. et al. (1995) พบว่า p-cumate-degrading strain *Pseudomonas putida* F₁ และ m- และ p- toluate-degrading strain *Pseudomonas putida* mt-2 จะเปลี่ยน indole-2-carboxylate และ indole-3-carboxylate ไปเป็น indigo, indirubin และ isatin โดยเอนไซม์ dioxygenase⁽²⁹⁾

O'Conner KE. et al. (1997) ได้ศึกษาการเปลี่ยน indole ไปเป็น indigo ในแบคทีเรียที่มีเอนไซม์ styrene monooxygenase (SMO) คือ *Pseudomonas putida* S12 และ CA-3 พบว่าในอาหารแข็งเมื่อใส่ indole เชื้อทั้งสองตัวนี้จะเปลี่ยน indole เป็น indigo เกิดเป็นสีน้ำเงินออกมามากกว่าในอาหารเหลว styrene เป็น inducer ที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดการเปลี่ยน indole ไปเป็น indigo แต่ Arginine จะเป็นตัวต้านไม่ให้เกิดอินดิโกใน *P. putida* CA-3 ซึ่งตรงข้ามกับใน *P. putida* S12⁽³⁰⁾

Xia ZQ. et al. (1992) ได้ศึกษาบทบาทของ L-tryptophan ในการเกิดสารตั้งต้นของอินดิโก ซึ่งก็คือ indican และ isatin B ในพืช 4 ชนิดคือ *Baphicacanthus cusia*, *Calanthe veratrifolia*, *Isatis tinctoria* และ *Polygonum tinctorium* โดยเมื่อให้ (3-¹³C) Indole และ L-(3-¹³C)-tryptophane แก่พืชเหล่านี้และทำการตรวจสอบหาสารรังสีโดยใช้วิธี ¹³C NMR และ massspectrometry พบว่าในสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิดที่ให้ (3-¹³C) Indole จะมี C-3 peak เหมือน standard ซึ่งแสดงว่าพืชมีการใช้ indole เป็นสารตั้งต้นในการเกิด indoxyl derivative ไม่ใช่ tryptophane⁽³¹⁾

Hayase N. et al. (2000) ได้ศึกษาบทบาทของ *Aeromonas* sp. B-5 ในการทำให้เกิดการซีดจางของสีพบว่าเชื้อนี้สามารถทำให้สีของ Bordeaux S ที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ซีดหายไปได้หมดเมื่อวางทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง การซีดจางของสีนี้เกิดจากการตัดพันธะ azo ของสีนี้โดยเอนไซม์ azoreductase และจะถูกยับยั้งเมื่อมีการเขย่า ส่วนการซีดจางของสี indigoid dye คือ Acid blue 74 จะเกิดขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีการเขย่าตลอดเวลาแสดงว่าเอนไซม์ที่ใช้ต้องต่างกันและจะต้องทำการศึกษาหาคุณสมบัติของเอนไซม์ต่อไป⁽³²⁾

Shim JY. et al. (1999) ได้ศึกษาการเกิดสารตั้งต้นของอินดิโกและอินดิรูบินในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ *Polygonum tinctorium* โดยจะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ *Polygonum tinctorium* รวมถึงการทำ cell suspension แล้วให้สารประกอบ indoles (5-bromo-, 5-fluoro-, 5-chloro-, 5-hydroxy-, 4-methyl-, 5-methyl-, 6-methyl- และ 7-methylindole) ความเข้มข้น 1 นาโนโมล เป็นเวลา 10-21 วัน พบว่า จะมีการเปลี่ยนสารเหล่านี้ยกเว้น 5-hydroxyindol ไปเป็นสารตั้งต้นของอินดิรูบินและอินดิโก⁽³³⁾

Kim SU. et al. (1996) ได้ศึกษาการเกิด indoxyl derivative ใน tissue culture ของ *Polygonum tinctorium* พบว่าใน cell suspension และ root culture เมื่อให้ indole จะมีการสร้างอินดิโรบินมากกว่าอินดิโกส่วนใน shoot culture จะมีการสร้างอินดิโรบินและอินดิโกในปริมาณเท่าๆ กัน⁽³⁴⁾

1.5 การย้อมสีอินดิโก^(35,36,37)

ขั้นตอนการย้อมสีอินดิโกแบ่งเป็น 3 ขั้นตอนคือ การผลิตเนื้ออินดิโก การก่อก้อนอินดิโก และการชุบอินดิโก ซึ่งจะมีรายละเอียดที่แตกต่างกันไปตามสภาพท้องถิ่นซึ่งมีลักษณะต่างๆ ไปคือ

1.5.1 การผลิตเนื้ออินดิโก

การผลิตและการเก็บเนื้ออินดิโกไว้ใช้นั้น มีขั้นตอนต่างๆดังนี้ หลังจากปลูกต้นครามได้ประมาณ 4-5 เดือนเมื่อต้นครามเริ่มมีดอกสีแดงเล็กๆก็แสดงว่าต้นครามนั้นสามารถนำมาใช้ได้ ต้นครามจะถูกตัดทั้งต้นและกิ่งแต่ในบางที่อาจจะตัดครึ่งต้น เพื่อปล่อยให้ต้นครามแตกใบออกอีกแล้วเก็บใบครามมาใช้ได้เป็นครั้งที่ 2 จึงตัดต้นทิ้งไป เมื่อได้กิ่งครามแล้วโดยทั่วไปจะมีกิ่งครามเข้าด้วยกันเป็นกำๆขนาดพอดีแล้วนำไปแช่ในโอ่งที่เตรียมไว้ซึ่งอาจจะเป็นโอ่งดินก็ได้ การแช่นี้อาจจะใช้เวลาประมาณ 1-3 วันตามความถนัดของผู้เก็บซึ่งจะแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ แต่อย่างไรก็ดีในระหว่างการแช่จะต้องมีการพลิกใบครามจากข้างล่างขึ้นมาข้างบนหรือถ้าต้องการแช่ 3 คืนหลังจากคืนที่ 2 แล้วต้องพลิกใบครามขึ้นมาหรือถ้าต้องการแช่ 1 คืนเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมงแล้วจะต้องพลิกใบครามกลับขึ้นมา การแช่จะต้องทำให้ครบวัน ครบคืน กล่าวคือถ้าแช่ตอนไหนก็ต้องนำไปกวนตอนนั้น ในระหว่างที่แช่น้ำที่แช่จะขึ้นเป็นฟองสีอินดิโก และน้ำมีสีอ่อนใสเหมือนสีเขียวสะท้อนแสง หรือในบางที่บอกว่าน้ำที่แช่ครามมีสีเหมือนปัสสาวะวัวแสดงว่าใช้ได้ แต่ถ้าไม่มีสีเขียวใสดังกล่าวโอ่งอินดิโกนี้จะใช้ไม่ได้ สาเหตุที่หม้ออินดิโกเสียเกิดจากการแช่นานเกินไปหรือใส่ใบครามมากเกินไป หลังจากแช่ได้แล้วก็คือประมาณ 1-3 วันให้นำใบครามออกจากโอ่งให้หมดเหลือไว้แต่น้ำซึ่งจะต้องนำมากวนต่อไป การกวนทำได้โดยนำปูนขาวไปละลายลงในน้ำดังกล่าวข้างต้นแล้วเพื่อใช้จับเนื้ออินดิโกให้ตกตะกอน⁽³⁷⁾ ใช้มือหรือตะกร้ากวนจนเกิดฟองการกวนนี้ใช้เวลา 1-2 ชั่วโมง จะสังเกตว่า ฟองที่เกิดขึ้นนั้นจะมีสีอินดิโกและจะมีลักษณะเป็นฟองละเอียดอยู่ได้นาน ไม่แตกง่าย น้ำแช่ก็จะเปลี่ยนเป็นสีอินดิโกด้วย อัตราส่วนของปูนที่ใส่จะขึ้นอยู่กับปริมาณของน้ำแช่ใบครามคือถ้าน้ำแช่ใบคราม 300 ลิตรจะใช้ปูนขาว 300 กรัม ถ้าหลังจากการกวนแล้วฟองที่ได้เป็นสีขาวและน้ำเป็นสีเขียวขี้ม้าแสดงว่าใช้ไม่ได้ ซึ่งอาจมีสาเหตุจากการใส่ปูนขาวหรือกวนมากเกินไป หลังจากกวนจนได้ผลตามต้องการแล้วให้ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 2-3 ชั่วโมงเนื้ออินดิโกจะตกตะกอนลงข้างล่างน้ำข้างบนจะใส ให้รินน้ำใสทิ้งเหลือไว้แต่ตัวอินดิโกที่ตกตะกอนนำตะกอนอินดิโกไปกรองเอาน้ำออก ต้องระวังไม่ให้น้ำออกไปหมดอินดิโกจะแห้งเกินไป

สังเกตดูพอเหลือเนื้ออินดิโกก็ใช้ได้ นำเนื้ออินดิโกนี้เก็บไว้ในภาชนะที่มีฝาปิด อินดิโกที่เก็บไว้นี้จะเก็บไว้ใช้ได้นานระวังอย่าให้น้ำแห้งถ้าแห้งต้องนำน้ำค่างมาเติม อินดิโกที่เก็บแบบนี้เรียกว่าอินดิโกเปียก ในบางท้องที่แถบจังหวัดสุรินทร์นิยมเก็บอินดิโกแบบแห้ง ทำได้โดยหลังจากที่รินน้ำใส่คอนบนของหม้ออินดิโกออกและเหลือแต่ตะกอนอินดิโกนั้นให้นำตะกอนอินดิโกไปใส่ผ้ากรองน้ำออกให้หมดแล้วเก็บเนื้ออินดิโกที่ได้ปั้นเป็นก้อนขนาดสบู่แล้วนำไปตากแดดจะได้เป็นอินดิโกแห้งก่อนนำมาใช้ต้องบดให้ละเอียดเสียก่อน

1.5.2 การก่อกหม้ออินดิโก

การก่อกหม้ออินดิโกนั้นจะมีกรรมวิธีในการก่อกหลายแบบส่วนผสมที่ใช้ก็แตกต่างกันตามความเชื่อและสิ่งแวดล้อมของแต่ละท้องถิ่น การก่อกหม้ออินดิโกที่ใช้ย้อมเส้นฝ้ายก็จะมีลักษณะที่แตกต่างจากหม้ออินดิโกที่ใช้ย้อมไหม อย่างไรก็ตามหม้ออินดิโกของแต่ละถิ่นก็จะมีเกณฑ์ในการก่อกที่คล้ายคลึงกันดังตัวอย่างที่นำมาเสนอนี้

ส่วนผสมที่ใช้ในการก่อกหม้ออินดิโก

ก.เนื้ออินดิโก

ข. น้ำกรดหรือน้ำส้ม เช่น น้ำมะนาวซึ่งมีกรดซิตริก น้ำมะนาวซึ่งมีกรดฟอรั่มิกและน้ำมะขามซึ่งมีกรดทาทาริก โดยได้จากการนำพืชที่มีรสเปรี้ยวหรือตัวมะนาวใส่น้ำคั้นจนเคี้ยวประมาณ 30 นาทีแล้วกรองเอาน้ำไปใช้ นอกจากนี้ยังมีการเติมสารเคมีอื่นๆเช่นเกลือแกงซึ่งช่วยให้สียึดง่าย สารส้มช่วยจับยีสติดและทำให้สีสดขึ้น สนิมเหล็กหรือโคลนจากใต้สระที่มีน้ำขังตลอดทำให้สีเข้มขึ้น

น้ำกรดหรือน้ำส้มนี้มีคุณสมบัติเป็น reducing agent อย่างอ่อน ซึ่งจะค่อยๆเปลี่ยนอินดิโกที่อยู่ในรูป oxidized form ไม่ละลายน้ำ ใช้เป็นสีย้อมไม่ได้ไปเป็น reduced form ซึ่งเป็นสารพวกลิวโค (leuco indigo) ที่ไม่มีสีแต่ละลายน้ำได้ สาร ไม่มีสีละลายน้ำได้นี้สามารถแทรกซึมในเนื้อผ้าและเกาะติดเนื้อผ้าได้ขณะย้อม หลังจากย้อมแล้วคลี่เนื้อผ้าสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศสารลิวโคจะถูกออกซิไดซ์กลับไปเป็นสีน้ำเงินไม่ละลายน้ำตามเดิมเกาะจับเนื้อผ้าทนนานเมื่อซักล้างสีไม่ค่อยตก แต่เนื่องจากสีอินดิโกนี้จะค่อยๆเปลี่ยนเป็น reduced form การย้อมเพียงครั้งเดียวจะทำให้สีที่ติดเนื้อผ้าไม่เข้มจึงต้องทำการย้อมหลายๆครั้ง ในกระบวนการย้อมสีสังเคราะห์ในขั้นตอนนี้จะมีการใช้สารเคมี เช่น sodium dithionite ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น reducing agent อย่างแรง เปลี่ยนอินดิโกซึ่งเป็น oxidized form ให้อยู่ในรูป reduced form ได้หมดทันที ทำให้การย้อมสีอินดิโกสังเคราะห์สะดวก รวดเร็ว สามารถย้อมครั้งเดียวแล้วได้สีน้ำเงินเข้มทันที แต่ reducing agent เหล่านี้เป็นอันตรายต่อผู้ย้อม เป็นสารก่อมะเร็งและเป็นพิษต่อผิวหนัง ทำให้เกิดมลพิษสูงในการผลิต น้ำทิ้งที่เกิดจากการย้อมสีเคมีทำให้ดินและน้ำเสียจึงทำให้มีการหันกลับมาใช้วัตถุดิบจากธรรมชาติมากขึ้น

ในขั้นตอนของการก่อก้อนอินดิโกนั้นใช้เนื้ออินดิโก 360 กรัม น้ำค้าง 1 ลิตรและน้ำมะนาว หรือน้ำมะขามหรือน้ำมะคาง 1 ลิตร คนให้เข้ากัน ในช่วงแรกของการก่อก้อนอินดิโกนั้นหม้ออินดิโกควรมีความเป็นกรดมากกว่าความเป็นด่างเพราะกรดจะช่วยในการเปลี่ยนอินดิโกที่อยู่ในรูป oxidized form ซึ่งไม่ละลายน้ำไปเป็น reduced form ซึ่งละลายน้ำได้และสามารถแทรกซึมเข้าไปในเนื้อผ้าได้ ถ้าหม้ออินดิโกมีความเป็นด่างจะทำให้อินดิโกไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็น reduced form ได้ สีไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปในเนื้อผ้าทำให้ย้อมสีไม่ติด ผู้ก่อก้อนอินดิโกต้องสังเกตว่าถ้าหม้ออินดิโกมีสีเขียวหรือเขียวน้ำเงินแสดงว่าหม้ออินดิโกใช้ได้ ผู้ที่จะรู้ว่าหม้ออินดิโกใช้ย้อมได้หรือไม่โดยสังเกตจาก

- ฟองซึ่งได้จากการคนและการคั่วอินดิโกขึ้นมาเทกลับลงไปหม้อเหมือนเดิม ฟองจะเกาะอยู่ด้านบนของหม้ออินดิโกนานไม่แตกง่าย
- ด้านบนของหม้ออินดิโกจะเกิดฝ้าสีน้ำเงินเข้ม
- น้ำอินดิโกจะมีสีเขียวและต่อมาถ้าในหม้อเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีเหลืองหรือสีเหลืองเทา ก็แสดงว่าหม้ออินดิโกกำลังจะเสียให้เติมน้ำมะคาง และน้ำค้างลงไปเพื่อให้หม้ออินดิโกดีเหมือนเดิม

ก. น้ำปูนใสหรือน้ำค้างที่ทำจากพืชเนื้ออ่อน เช่น ต้นผักขมหนาม ต้นมะละกอ เหง้ากล้วย ใบกล้วย ก้านกล้วย เปลือกของผลไม้ ใบมะขาม กาบมะพร้าว เปลือกเพกา เป็นต้น เลือกพืชชนิดใดชนิดหนึ่งมาฝัดแดดให้หมดแล้วเผาจนเป็นขี้เถ้าสีขาว นำขี้เถ้าที่ได้มาใส่อ่างที่มีน้ำอยู่ กวนให้ทั่วทิ้งไว้ 4-5 ชั่วโมง ขี้เถ้าจะตกตะกอน นำน้ำที่ได้ไปกรองให้สะอาดแล้วจึงนำไปใช้งาน

1.5.3 การชุบอินดิโก

การชุบอินดิโกจะทำที่อุณหภูมิประมาณ 30°C - 40°C โดยนำเส้นฝ้ายหรือไหมที่ทำความสะอาดแล้วชุบน้ำบิดให้หมาดก่อนย้อมทุกครั้งเพราะจะทำให้เส้นฝ้ายสามารถดูดน้ำสีย้อมได้ดีและทำให้สีติดที่เส้นใยได้ง่าย แล้วนำไปย้อมกับสีอินดิโกในหม้ออินดิโกครั้งหนึ่งๆประมาณ 15 นาที จากนั้นนำไปบิดให้หมาด ฝ้ายหรือไหมจะมีสีเขียวอมเหลืองเพราะอินดิโกยังอยู่ในรูป reduced form เมื่อนำฝ้ายหรือไหมนั้นฝัดแดดสีอินดิโกจะถูกอากาศซึ่งมีออกซิเจนอยู่และจะค่อยๆเปลี่ยนไปเป็น oxidized form ซึ่งมีสีน้ำเงินภายใน 2-3 นาที หากสียังไม่เข้มพอให้นำไปย้อมในหม้ออินดิโกอีกทำซ้ำ 6-10 ครั้งเพราะสีอินดิโกจะค่อยๆแทรกซึมในเนื้อฝ้ายหรือไหมแล้วเปลี่ยนเป็น oxidized form จนได้สีน้ำเงินเข้มในที่สุด จากนั้นจึงนำมาซักด้วยน้ำเปล่าจนน้ำใส บิดให้หมาดกระตุกเส้นฝ้ายหรือไหมให้ตึงเพื่อเป็นการคลี่เส้นใยและนำไปผึ่งในร่มหรือฝัดแดดก็ได้ จะได้เส้นฝ้ายหรือไหมสีน้ำเงินตามต้องการ

1.6 การวิเคราะห์สารให้สีธรรมชาติจากพืช

1.6.1 การแยกบริสุทธิ์⁽³⁸⁾

ก่อนที่จะทำการวิเคราะห์โครงสร้างเคมีตรวจสอบปริมาณสารให้สีแต่ละชนิดที่มีในพืชแต่ละชนิดตลอดจนสมบัติของสารให้สีดังกล่าวจำเป็นต้องทำการแยกให้บริสุทธิ์เสียก่อน สำหรับสารให้สีธรรมชาติขั้นตอนการแยกบริสุทธิ์ไม่ยุ่งยากและวิธีที่นิยมใช้มีดังต่อไปนี้

1.6.1.1 โครมาโทกราฟีผิวบาง (Thin-layer Chromatography, TLC)

เป็นการแยกสารโดยใช้ stationary phase ซึ่งแผ่เป็นแผ่นเคลือบบน support ซึ่งอาจเป็นแก้ว aluminium หรือ polyethylene เมื่อหยดสารผสมลงบน stationary phase ที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดกระบวนการที่ตัวทำละลายจะเคลื่อนที่ผ่านไปบน stationary phase ซึ่งเรียกว่า development ขณะที่เกิด development สารก็จะแยกออกจากกัน กลวิธีในการแยกจะมีทั้ง adsorption และ partition แต่จะมีวิธีใดมากกว่าขึ้นกับว่าแผ่น TLC ที่เตรียมขึ้นนั้นถูกนำไป activate หรือไม่ การ activate แผ่น TLC โดยอบที่ 110 °C เป็นเวลาครึ่งชั่วโมง จะทำให้น้ำระเหยออกไปจาก particle ของ adsorbent ทำให้กลวิธีเป็น adsorption มากกว่า partition แต่ถ้าไม่ได้นำ plate ไป activate น้ำที่จับอยู่ที่ particle จะทำหน้าที่เป็น liquid stationary phase จะมี partition mechanism เกิดมากกว่าเดิม น้ำที่เคลือบอยู่นี้มาจากความชื้นในอากาศนั่นเอง TLC ที่ใช้มีหลายชนิด ได้แก่

ก. Microscopic slide TLC เป็น TLC ขนาดเล็กใช้แผ่น microscopic slide ใช้แยกสารโดยใช้เวลาสั้น เช่น แยกสาร 4 ชนิด ในเวลา 5 นาที เตรียมง่าย ไม่ต้อง activate โดยมากใช้ทาง qualitative เช่น ตรวจ synthetic reaction หรือตรวจ fraction ของ column chromatography ที่มีสารไม่มากชนิดนัก

ข. Macro-layer TLC เป็น TLC ที่ใช้ทั่วไปและมีขายสำเร็จรูป มีขนาด 5x20, 10x20, 20x20 เซนติเมตร ความหนาของ adsorbent เท่ากับ 0.25 มิลลิเมตร ใช้ทั้ง qualitative และ quantitative

ค. Preparative TLC เป็น TLC ที่มี adsorbent หนาขึ้นถึง 2 มิลลิเมตร ใช้เมื่อแยกสารปริมาณมากขึ้น เช่นเดียวกับ Macro-layer TLC

1.6.1.2 โครมาโทกราฟีคอลัมน์ (Column Chromatography)

เทคนิคของโครมาโทกราฟีชนิดนี้ก็คือใส่ตัวทำละลายลงในหลอดรูปทรงกระบอกโดยปกติจะทำได้ด้วยแก้วมีปลายด้านล่างเปิดและปิดได้ สารที่ใช้เป็นวัสดุภาคคงที่อาจเป็นตัวดูดซับ (ในกรณีของโครมาโทกราฟีแบบดูดซับ) หรือเป็นของเหลวแผ่นบางๆ ที่เคลือบอยู่บนสารเฉื่อย (ในกรณีของโครมาโทกราฟีแบบแบ่งแยก) สำหรับการเตรียมคอลัมน์นั้นทำได้โดยการกรอกสารที่ใช้

เป็นตัวยุคซัพแท่ง ๆ ลงไปเลย หรือจะเตรียมโดยเอาตัวยุคซัพแท่งนี้ผสมกับตัวทำละลายก่อน แล้วจึงใส่ลงในหลอดรูปทรงกระบอก ถ้าหากทำโดยวิธีแรกจะต้องเติมตัวทำละลายที่จะใช้เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ลงไปและจะต้องให้ตัวทำละลายนี้สัมผัสกับตัวยุคซัพแท่งอย่างทั่วถึง นั่นคือจะต้องไม่มีฟองอากาศอยู่ระหว่างตัวยุคซัพแท่งและปรับระดับของตัวทำละลายให้อยู่เหนือตัวยุคซัพแท่งเล็กน้อย แล้วจึงค่อยๆ เติมสารผสมที่ต้องการแยกลงไป (สารผสมนี้จะต้องละลายในตัวทำละลายที่ปริมาณน้อยที่สุด) หลังจากนั้นเติมตัวทำละลายที่จะใช้เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ที่ทีละน้อยของเหลวนี้จะไหลผ่านคอลัมน์และรองรับที่ปลายล่างของคอลัมน์ โดยทั่วไปจะใช้ตัวทำละลายที่มีโพลาไรตี (polarity) สูงขึ้น ถ้าหากเลือกสารตัวยุคซัพแท่งและตัวทำละลายได้เหมาะสมก็จะสามารถแยกสารแต่ละชนิดให้เคลื่อนที่ด้วยความเร็วต่างกันถ้าหากสารนั้นมีสีก็จะปรากฏให้เห็นเป็นแถบสีและเมื่อเติมตัวทำละลายไปเรื่อยๆ สารแต่ละชนิดก็จะผ่านออกจากคอลัมน์ ในเวลาแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมให้สารต่างๆ แยกกันอยู่ในคอลัมน์แล้วหยุดเติมตัวทำละลายปล่อยให้ตัวทำละลายนี้ผ่านคอลัมน์จนหมดแล้วตัดคอลัมน์เป็นส่วนๆ ตามแถบของสารแต่ละชนิด ดันเอาตัวยุคซัพแท่งออกจากคอลัมน์แล้วสกัดด้วยตัวทำละลาย หลังจากนั้นจึงระเหยเอาตัวทำละลายออกไป ก็จะได้สารแต่ละชนิด ตรวจสอบความบริสุทธิ์โดยการทำให้ TLC ที่ใช้ตัวระเหยแตกต่างกันหลายๆ ตัวระเหย ถ้าสารบริสุทธิ์จะไม่มีตัวระเหยแบบใดแยกสารออกจากกันได้อีก หากยังไม่บริสุทธิ์จะทำการแยกซ้ำในคอลัมน์เดิมหรือทำการตกผลึกช่วย

1.6.2 การวิเคราะห์^(9,38)

1.6.2.1 การวิเคราะห์กลุ่มสารให้สีโดยปฏิกิริยาเคมี

การศึกษาโดยอาศัยการตรวจสอบสารเคมี วิธีนี้อาศัยข้อมูลเบื้องต้นเพื่อจัดกลุ่มสารให้สีที่มีโครงสร้างหลักแบบเดียวกัน ซึ่งได้แก่ อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน เป็นต้น นำพืชต่างๆ มาตรวจสอบว่าสารให้สีจัดอยู่ในกลุ่มใดดังกล่าวข้างต้น พืชใดที่มีสารให้สีกลุ่มที่ตรวจสอบมากก็จัดเป็นพืชที่ควรนำมาสกัดแยกต่อจนได้สารบริสุทธิ์ แล้วจึงนำไปตรวจสอบสมบัติและโครงสร้างทางเคมี วิธีการตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดในพืช อาจทำได้โดยใช้ปฏิกิริยาทางเคมีง่ายๆ ซึ่งจะให้ผลเป็นสีต่างๆ หรือการเกิดตะกอนต่างๆ ได้มีผู้ใช้น้ำยาเคมีต่างๆ โดยเฉพาะกรดเข้มข้นในการทำปฏิกิริยากับสารสกัด

1.6.2.2 การวิเคราะห์โครงสร้างโดยวิธีทางสเปกโตรสโกปี (spectroscopy)

เป็นวิธีหาสูตรโครงสร้างโดยอาศัยการวัดและวิเคราะห์รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic radiation) ซึ่งถูกสารดูดกลืน (absorb) หรือ เปล่ง (emit) ออกมาจากสาร โดยอาศัยเครื่องมือต่างๆ ที่ทำหน้าที่ให้กำเนิดรังสีแม่เหล็กไฟฟ้า แยกวัดรังสีแม่เหล็กไฟฟ้าออกเป็นช่วงความยาวคลื่นต่างๆ กัน วัดการดูดกลืนรังสีในช่วงเหล่านี้โดยสาร และบันทึกข้อมูลออกมา

เป็น spectrum ซึ่งสารจากธรรมชาติแต่ละชนิดมี spectrum ซึ่งมีลักษณะเฉพาะตัว การตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารซึ่งมีผู้ศึกษาสูตรโครงสร้างแล้วอาจทำได้โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่รู้โครงสร้าง (authentic sample) หรือเปรียบเทียบกับ spectrum ที่รายงานไว้ในเอกสารต่างๆ สำหรับสารใหม่ต้องอาศัย spectrum มาประกอบกันจึงจะสามารถบอกสูตรโครงสร้างได้

ก. Ultraviolet - visible Spectroscopy

เป็นวิธีการวัดการดูดกลืนแสงของสารในสารละลายที่เจือจาง ในช่วงความยาวคลื่น 200- 700 นาโนเมตร สำหรับสารที่มีสีวัดที่ 200-700 นาโนเมตร ส่วนสารที่ไม่มีสีวัดที่ 200-400 นาโนเมตร สิ่งสำคัญในการตรวจเอกลักษณ์คือ ความยาวช่วงคลื่น (wave length) ที่มีการดูดกลืนสูงสุด หรือต่ำสุดของสารและความเข้มข้นของการดูดกลืน นอกจากวัดการดูดกลืนในสารละลายที่เป็นกลางแล้ว ยังดูผลการเปลี่ยนแปลง pH ต่อการดูดกลืนแสงของสารว่าจะเปลี่ยนแปลงไปหรือไม่ เช่น phenolic compound เมื่อใส่ด่าง ความยาวคลื่นที่สารดูดกลืนแสงจะเคลื่อนไปอยู่ที่ช่วงความยาวคลื่นที่ยาวขึ้น เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า Bathochromic shift ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงนี้ถ้าเป็นลักษณะการเปลี่ยนไปดูดกลืนสารในช่วงความยาวคลื่นสั้นลงเรียกว่า hypochromic shift สารบางชนิดจะไม่ดูดกลืนแสงเลย เช่น saturated lipid หรือ alkanes, organic acid, aliphatic amino acid และ น้ำตาล

ข. Infrared Spectroscopy

เป็นการวัดพลังงานที่เกิดจากการสั่นของโมเลกุล พันธะ หรือ functional group ช่วงที่วัดมีความถี่ $4,000-677\text{ cm}^{-1}$ หรือช่วงคลื่น 2.5 –15 nm เราใช้ตำแหน่งของ spectrum และความเข้มข้นของ peak ว่ามากน้อยหรือปานกลางเทียบกับ spectrum ของสารที่รู้สูตรโครงสร้างจาก IR spectrum จะช่วยบอก functional group และประเภทของสารได้ บริเวณเหนือ $1,200\text{ cm}^{-1}$ เป็น band หรือ peak ที่เกิดจากการสั่นของ individual bonds หรือ functional groups เช่น aromatic พบที่ $3,050\text{ (cm}^{-1})$, $2,100\text{ (cm}^{-1})$, $1,700\text{ (cm}^{-1})$, $1,600\text{ (cm}^{-1})$, $1,580\text{ (cm}^{-1})$, $1,600\text{ (cm}^{-1})$ ส่วนบริเวณที่ต่ำกว่า $1,200\text{ cm}^{-1}$ เป็น fingerprint region เกิดจากการสั่นของทั้งโมเลกุล เป็น spectrum ที่ซับซ้อน สารที่จะนำไปทำการ IR spectrum จะต้องเป็นสารที่บริสุทธิ์ อาจใช้สารละลาย 0.1-5% โดยมากใช้คลอโรฟอร์ม หรือ ใช้ของแข็งผสมกับ KBr แล้วอัดเป็นแผ่นใส หรือ ใช้ Nujol ทำให้เป็น suspension หรือ mull

ค. Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

เป็น spectrum ที่ได้จากการวัด magnetic moment ของ H-atom เนื่องจาก H-atom ที่ติดอยู่กับ functional group แต่ละอันจะมีค่า magnetic moment แตกต่างกัน เช่น CH_3 , $-\text{CH}_2$, $-$

CHO, $-NH_2$ เป็นต้น จาก spectrum ของ NMR เราจะได้ค่าของจำนวน H และชนิดของ carbon skeleton ที่ H จับอยู่ ตำแหน่งของ spectrum ใช้ค่า δ (delta) หรือ τ (tau)

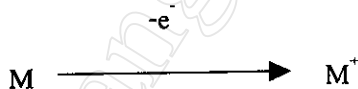
$$\tau = 10\delta$$

ตัวทำละลายที่ใช้ละลาย sample ได้ CCl_4 , deuterium chloroform ($CDCl_3$), deuterium oxide (D_2O), deuterium acetone (CD_3COCD_3) ส่วนสารที่มีขั้วใช้ tetramethylsilane, เป็นตัวทำละลาย พวกสารที่เป็น saturated compound จะมีค่าน้อยส่วนพวกที่มี unsaturation, O, N, S จะมีค่าสูง Chemical shifts (δ) จะมีค่า $= \Delta\nu \times 10^6 / \text{radian frequency}$, $\Delta\nu$ = difference in absorption frequency ของ sample และ reference compound คือ TMS มีหน่วยเป็น Hertz หน่วยของ chemical shift ส่วนมากใช้ p.p.m. spectrum ของ NMR อาจจะซับซ้อนเนื่องจาก interaction กับ atom ข้างเคียง แทนที่จะได้ peak เดียว อาจจะได้ 2 หรือ 3 หรือ มากกว่า

ง. Mass spectrometry (MS)

เป็น spectrum ที่ได้จากการระเหย sample เข้าไปใน low pressure system ของ MS ซึ่งสารจะถูก ionized เกิดการแตกตัวของพันธะได้ไอออนที่มีประจุบวก (positively charged ion) ซึ่งจะถูกร่ง (accelerated) ในสนามแม่เหล็กและการกระจายตัว (disperse) ทำให้สามารถวัดปริมาณ ion สัมพัทธ์ (Relative abundance) ได้เป็น mass/charge

MS จะช่วยในการหาน้ำหนักโมเลกุล โดยที่ใช้ค่า molecular ion ซึ่งเป็น ion ที่เกิดจาก ionize ทำให้ electron หลุดไป 1 ตัว



ในการหาสูตรโครงสร้างอาศัย fragment ที่ได้จากการแตกตัวว่ามีที่ m/e เท่าไร แล้วนำแต่ละ fragment มาต่อกันและอาศัย spectroscopy อื่น ก็ช่วยให้หาสูตรโครงสร้างได้ สารบางชนิดไม่ระเหย จำเป็นต้องทำ trimethylsilylethers หรือ methyl ester derivatives ก่อน

1.7 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาวิธีสกัดสารสีน้ำเงินจากครามและช่อมและพัฒนาขั้นตอนการสกัดที่สะดวก รวดเร็วลดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ศึกษาองค์ประกอบหลักของสารให้สีที่สกัดได้รวมทั้งปริมาณที่มีอยู่ แยกบริสุทธิ์และวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีและสมบัติขององค์ประกอบดังกล่าวเพื่อใช้เป็นข้อมูล ในการพัฒนาการผลิตสีอินดิโกจากธรรมชาติสำเร็จรูปในระดับอุตสาหกรรมและดัดแปลงให้อยู่ใน รูปที่ใช้อย่างง่ายและได้ผลิตภัณฑ์สีที่มีคุณภาพดีและสะดวกในการเก็บรักษา