ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาการสกัดอินดิโกจากครามและย่อมเพื่อใช้ในการย้อมสีธรรมชาติ	
ชื่อผู้เขียน	นางสาวนิตยา ชะนะญาติ	
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. สุรีย์ ฟูตระกูล	ประธานกรรมการ
	รศ. สรศักดิ์ เหลี่ยวไชยพันธุ์	กรรมการ
	อ.ดร. ดารารัตน์ ทองขาว	กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดอินดิโกจากใบครามและใบย่อม พบว่าวัตถุดิบที่จะนำมาสกัดอินดิโกต้องมีความสดมากถึงจะสกัดอินดิโกได้ปริมาณมาก วิธีสกัดต้องหั่นวัตถุดิบเป็นชิ้นเล็กๆแล้วใส่ถุงผ้า หมักด้วยน้ำในถังที่มีฝาปิดมิดชิด เป็นระยะเวลา 24 ชม. จะได้น้ำหมักที่นำไปตกตะกอนอินดิโกออกมาได้โดยเติมน้ำปูนใสแล้วให้อากาศ กากวัตถุดิบที่เหลือจากการหมักก็สามารถกำจัดทิ้งได้ง่าย ลดกลิ่นเหม็นที่เกิดจากการหมักได้ ตะกอนอินดิโกที่ได้จากการหมักใบย่อมในน้ำ 24 ชม.จะมีปริมาณมากที่สุดเมื่อเทียบกับวิธีการหมักอื่นๆคือได้ตะกอนอินดิโก 0.005 กรัมต่อน้ำหนักใบย่อมสด 1 กรัม เมื่อแยกหาองค์ประกอบหลักของสารสีสกัด โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีผิวบางพบว่าระบบตัวชะที่เหมาะสมในการแยกเป็น chloroform : hexane : methanol ในอัตราส่วน7:4:1โดยปริมาตร องค์ประกอบหลักที่แยกได้คือสารสีน้ำเงินและแดง ซึ่งมีค่า R_f 0.69 และ 0.49 ตามลำดับ สารสีน้ำเงินมีค่า R_f ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 603 นาโนเมตรและมี Infrared (IR) spectrum เช่นเดียวกับสารอินดิโกมาตรฐาน จึงน่าจะสรุปได้ว่าสารสีน้ำเงินนี้คืออินดิโก ส่วนสารสีแดงที่สกัดได้ไม่มีสารมาตรฐานเป็นตัวเปรียบเทียบ จึงวิเคราะห์หาโครงสร้างทางเคมีของสารสีแดงที่สกัดจากใบย่อมที่แยกบริสุทธิ์แล้ว โดยวิธี mass spectroscopy และ ^{13}C NMR ผลที่ได้แสดงว่าสารสีแดงจากใบย่อมมีสูตรเป็น $C_{16}H_{10}N_2O_6$ และมีโครงสร้างทางเคมีเหมือนอินดิรูบิน จึงใช้สารอินดิรูบินที่สกัดได้จากใบย่อมนี้เป็นสารมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบกับสารสีแดงที่สกัดได้จากใบคราม พบว่าสารอินดิรูบินมาตรฐานจากใบย่อมและสารสีแดง จากใบครามมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 535 นาโนเมตรเหมือนกันและยังมี Infrared (IR) spectrum เหมือนกันด้วย จึงสรุปได้ว่าสารสีแดงที่สกัดจากใบย่อมและสารสีแดงที่สกัดจากใบคราม คือ อินดิรูบิน

สำหรับการแปรรูปสารสีสกัดให้อยู่ในรูปพร้อมใช้งานนั้น พบว่าการเตรียมเป็นเม็ดแกรนูลเป็นวิธีที่ดีที่สุด การเตรียมสูตรสำเร็จที่เหมาะสมในการผลิตอินดิโกในรูปของเม็ดแกรนูล พบว่า ควรเตรียมจากสารสีสกัดที่อบที่ 60 $^{\circ}C$ 72 ชั่วโมง เพราะปริมาณอินดิโกในเม็ดแกรนูลจะมีมากกว่าการเตรียมจากสารสีสกัด

ลักษณะตะกอนเปียก การเตรียมเม็ดแกรนูลจะใส่สารช่วยย้อมพวกกรดซิตริก ครีมออฟตาร์ตาซึ่งมีกรดทาร์ทาริก สารส้ม คอปเปอร์ซัลเฟต wetting agent ในอัตราส่วนต่างๆ เพื่อหาสูตรที่เหมาะสม พบว่า การเติม wetting agent ทำให้อัดเป็นเม็ดแกรนูลได้ง่ายขึ้น

การศึกษาวิธีการแยกสารสีน้ำเงินและแดงเพื่อการแปรรูป พบว่าสารสีแดงละลายได้ดีในเมทานอล ส่วนสารสีน้ำเงินละลายได้ดีในคลอโรฟอร์มซึ่งวิธีการสกัดนี้น่าจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมเพื่อการแปรรูปสารสีน้ำเงินและสารสีแดงเป็นสีย้อมธรรมชาติต่อไป

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

Thesis Title	Development of Indigo Extraction from *Indigofera tinctoria* and *Baphicacanthus cusia* for Natural Dyeing	
Author	Miss Nittaya Chanayath	
M.S.	Biotechnology	
Examining Committee	Assoc. Prof. Dr. Suree Phutrakul	Chairman
	Assoc. Prof. Sorasak Lhieochaiphant	Member
	Lect. Dr. Dararat Tongkao	Mamber

Abstract

Indigofera tinctoria and *Baphicacanthus cusia* are the plants which have been used as natural sources of indigo dye and are available in Northern part of Thailand. In the studies we carried out to find the optimum condition for effective extraction of indigo from the leaves of *Indigofera tictoria* and *Baphicacanthus cusia* and investigated for chemical constituents including the chemical structures of the major components in the water extract from both kinds of plants to develop the extraction method for preparation of ready use natural dyes. It was found that the cutting leaves to small pieces and put into cotton bag before fermentation with water could decrease unpleasant smell and it was easy to get rid of waste. The indigo from fresh *Baphicacanthus cusia* fermentation for 24 hrs gave the highest amount of indigo (0.005 g/g fresh leaves). Separation of the crude extract by thin layer chromatrography (TLC) using chloroform-hexane-methanol (7:4:1 v/v/v) as solvent system gave two major pigments of blue and red colours which had R_f values of 0.69 and 0.49, respectively. The R_f value, the maximum absorption from UV-Visible spectroscopy and infrared spectrum of blue colour were the same as the indigo standard. Moreover, the red pigment extracted from *Baphicacanthus cusia* was purified and analysed by mass spectrometry and ^{13}C NMR showed that the red pigment had chemical formula as $C_{16}H_{10}N_2O_6$ and chemical structure as indirubin and it was used as indirubin standard. The red pigment from *Indigofera tictoria* was also purified and gave the same R_f value, UV-Visible absorption and IR spectrum as the indirubin standard.

The methods to prepare the ready use natural indigo with long shelf life and easy for dyeing were studied. It was found that the ganulation of natural indigo was the best method to prepare the ready use natural indigo. The components of the granulated indigo included crude extract natural indigo, lactose, starch, citric acid, tartaric acid, alum, copper sulphate and wetting agent in different ratio. The natural indigo that dried in oven at 60 ^{o}C 72 hrs was the best starting material for preparation of the granulated indigo and adding of the wetting agent or surfactants could make more easy in making granulated indigo. The cotton dyed with the granulated indigo containing lactose gave more evenly blue color than the cotton that dyed with the granulated indigo containing starch. The preparation of the ready use indigo needs the data reported about the necessary constituents in the dye bath for dyeing which will be useful for the development of the suitable compositions in ready use indigo.

The blue and red pigments in the crude extract could dissolve well in chloroform and methanol, respectively. Separation of the blue and red pigments from the crude extract would be developed to get the powder of the red and blue pigments which will be used for potential application as instant natural blue and red dyes.