

การศึกษาผลของวิธีการสกัดและชนิดมอร์แดนต์ต่อคุณภาพของสีย้อม
และการศึกษาสารในสีย้อมดอกดาวเรือง

**The Effect of Extractions and Mordants on Dyeing Quality
and Study the Compound in Marigold Dye**

กาญจนา วงศ์กระจ่าง และปณิธาน สุระยศ*

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

*Email: panitan@psru.ac.th

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาแม่สีจากธรรมชาติ (สีเหลือง) จากดอกดาวเรืองในการย้อมบนด้ายฝ้าย จากการศึกษาพบว่าน้ำย้อมดอกดาวเรืองที่ดี ได้จากการเตรียมจากเทคนิคให้ความร้อน 70 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 60 นาที และเทคนิคไมโครเวฟ 800 วัตต์ ใช้เวลา 7 นาที ซึ่งเทคนิคไมโครเวฟใช้เวลาน้อยกว่า 8.57 เท่า การใส่มอร์แดนต์เป็นตัวช่วยในการย้อมได้เพิ่มค่าการดูดซับสีเพิ่มขึ้นสูงสุด 29 เปอร์เซ็นต์ และย้อมมอร์แดนต์ก่อนย้อมสีของสารส้มดีกว่าเกลือแกง แสดงค่าการดูดซับสีที่ดีกว่า จากการศึกษาสารจากน้ำย้อมดอกดาวเรืองพบเคอซีตาจิดินซึ่งเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ มี หมู่คีโตน ($C=O$) ตำแหน่งที่ 4 และมีหมู่ไฮดรอกซี ($-OH$) จำนวน 6 หมู่ ทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนได้ดีและสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ Al^{3+} ของสารส้ม ดังนั้นทำให้การย้อมเส้นด้ายด้วยน้ำย้อมดอกดาวเรืองที่มีมอร์แดนต์ให้สีเหลืองเข้มขึ้นเมื่อเทียบกับไม่มี

คำสำคัญ: ดาวเรือง ฟลาโวนอยด์ สีย้อม

Abstract

The objective of this research was to investigate the natural yellow primary color from marigold flower for dyeing on cotton yarn. The dye extractions of marigold flower were achieved by heating technique at 70 °C for 60 minutes and the microwave technique at 800 W for 7 minutes. The microwave technique took the time less than 8.57 times compare to heating technique. Adding mordant to the dye has increased the color absorption reach to 29% and pre-mordanting of alum (Al^{3+}) showed color absorption better than salt (Na^+). Further study indicated that, the structure of the substance in the dye is quercetagenin. This compound is flavanol which consists keto group at 4 position and 6 groups of hydroxyl ($-OH$) that provide the hydrogen bonding and can form the complex with Al^{3+} from alum. Thus, dyeing yarn with marigold dye in combination with mordant was darker in color than without mordant.

Keywords: *Tagetes erecta* L., flavonoids, dyes

บทนำ

การใช้สีธรรมชาติได้มีมาช้านานทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร (สุกานดา, 2549; Siva, 2007) โดยเฉพาะการย้อมเส้นไหมและผ้าซึ่งเป็นภูมิปัญญาที่สืบทอดกันมา (อนันต์เสวก, 2543; Griffiths, 2005; Kumar, Sinha, 2003) สีธรรมชาติมีคุณสมบัติเด่นเฉพาะตัว คือ สีสวย เย็นตา ไม่ฉูดฉาด สามารถละลายน้ำได้ง่าย แต่มีคุณสมบัติด้านการคงทนต่อแสงไม่ดีนักสีมีการเปลี่ยนแปลงง่าย และซีดง่ายซึ่งต่างจากสีสังเคราะห์ ดังนั้นจึงทำให้มีการหันมาใช้สีสังเคราะห์กันมากขึ้น แต่ต่อมาพบว่าสีสังเคราะห์ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบ azo ซึ่งเป็นอันตรายทำให้เกิดการแพ้ (allergy) เป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogens) (Watters et al., 1964; Puntener et al., 2003) จึงได้หันกลับมาสนใจสีธรรมชาติอีกครั้ง สีธรรมชาติมีความหลากหลายสามารถจัดแบ่งตามโครงสร้างทางเคมี แบ่งได้หลักๆ 7 กลุ่ม คือ คลอโรฟิลล์ (chlorophylls) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แอนโทไซยานิน (anthocyanins) ควิโนนอยด์ (quinonoids) อินดิโกอยด์ (indigoids) และ บีตาเลน (betalains) (Zeb et al., 2004) สีธรรมชาติที่ได้จากพืชพบได้หลายชนิด แต่เมื่อเทียบกับสีสังเคราะห์แล้วยังน้อยกว่ามาก ดังนั้นควรมีการศึกษาการผสมสีกันมากขึ้น การผสมสีเกิดจากแม่สี คือ สีเหลือง สีแดง และสีน้ำเงิน ดังนั้นการหาแม่สีจากธรรมชาติจึงมีความสำคัญ โดยต้องคำนึงถึงแหล่งที่มา ปริมาณ และประสิทธิภาพการติดสี และราคา (Kumar et al., 2003; Googwin, 1976; Kaiser, 1993)

ดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) เป็นไม้ประดับที่อยู่ในวงศ์ Compositae ซึ่งเป็นพืชชนิดหนึ่งที่กลีบดอกสามารถใช้เป็นแหล่งสีเหลืองได้ หาง่าย ราคาไม่แพง เนื่องจากดาวเรืองเป็นพืชเศรษฐกิจที่เกษตรกรนิยมปลูก อายุเก็บเกี่ยวน้อยประมาณ 60-70 วัน สามารถปลูกได้ทุกสภาพพื้นที่ และทุกฤดูกาล ดาวเรืองเป็นพืชตัดดอก มีดอกที่ไม่ได้ขนาดเป็นจำนวนมากที่เหลือทิ้ง ดาวเรืองมีสารสำคัญหลายชนิด โดยเฉพาะสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ และฟลาโวนอยด์ (Sowbhagya et al., 2004; Guinot et al., 2008) ซึ่งเป็น 2 กลุ่มที่สีส้มและสีเหลืองตามลำดับ โดยสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ได้มีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร การเลี้ยงสัตว์ การแพทย์ และเครื่องสำอาง ในดอกดาวเรืองมี สารลูทีน (lutein) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์พบว่ามีถึง 72.3 เปอร์เซ็นต์ (วีราภรณ์, 2543; Sowbhagya, 2004) สารลูทีนเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ประกอบด้วยคาร์บอนจำนวน 40 อะตอม หรือมีไอโซพรีนอยด์ 8 หน่วยเชื่อมต่อกันเป็นแบบคอนจูเกต จึงทำให้เกิดสีเหลืองถึงสีแดง (Zeb and Mehmood, 2004) ส่วนสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ยังไม่ค่อยมีการศึกษาในแง่ของสารสี

ในการวิจัยครั้งนี้สนใจศึกษาแม่สีธรรมชาติ (สีเหลือง) ของกลีบดอกดาวเรืองที่ไม่ได้ขนาดหรือที่เหลือทิ้งจากการเก็บเกี่ยว โดยใช้ในการเป็นสีย้อมผ้า และศึกษาโครงสร้างของสารในสีย้อมเพื่อวิเคราะห์การติดสี และเพื่อพัฒนาในการเป็นแม่สีของสีย้อมในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับสีของด้ายฝ้ายในน้ำย้อมดอกดาวเรืองที่เตรียมด้วยเทคนิคไมโครเวฟที่เวลาและอุณหภูมิต่างกัน
2. เพื่อศึกษาผลของมอร์แดนต์ (Mordant) ต่อการดูดซับสีของน้ำย้อมดอกดาวเรืองบนด้ายฝ้าย
3. เพื่อศึกษาโครงสร้างสารในน้ำย้อมดอกดาวเรือง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมน้ำย้อมผ้าฝ้าย มี 2 วิธี คือ (1) ทำความสะอาดผ้าฝ้าย และ (2) การทำความสะอาดผ้าพร้อมฟอกขาว ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1.1 การทำความสะอาดผ้าฝ้าย

นำผ้าฝ้าย 100 กรัม มาทำความสะอาดโดยการต้มผ้าฝ้ายกับสบู่อัลลิตและโซเดียมคาร์บอเนต ในอัตราส่วน สบู่อัลลิต : โซเดียมคาร์บอเนต : น้ำ (10 กรัม : 1.0 กรัม : 1.0 ลิตร) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำ แล้วนำผ้าฝ้ายผึ่งลมให้แห้ง

1.2 การทำความสะอาดผ้าพร้อมฟอกขาว

นำผ้าฝ้าย 100 กรัมมาทำความสะอาดโดยการต้มผ้าฝ้ายด้วยสบู่อัลลิตและโซเดียมคาร์บอเนต ในอัตราส่วน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (50% v/v) : โซเดียมซัลเฟต : โซเดียมไฮดรอกไซด์ : น้ำ (3.5 กรัมต่อลิตร : 1.5 กรัมต่อลิตร : 6.0 กรัมต่อลิตร : 1.0 ลิตร) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำ แล้วนำผ้าฝ้ายผึ่งลมให้แห้ง

2. การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำย้อมดอกดาวเรืองที่เตรียมด้วยเทคนิคให้ความร้อนและไม่โครเวฟที่เวลาต่างกัน

วิธีการเตรียมน้ำย้อมดอกดาวเรืองโดยเทคนิคให้ความร้อน เริ่มจากนำดอกดาวเรืองมาตัดเอาเฉพาะในส่วนของกลีบดอกสีเหลือง โดยชั่งน้ำหนักดอกดาวเรืองต่อน้ำกลั่นเป็น 2 กรัม ต่อ 20 มิลลิลิตร (ในอัตราส่วน 1: 10) ใส่ในขวดรูปชมพู่ 4 ใบ หลังจากนั้นต้มโดยใช้อุณหภูมิคงที่ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที (ใบที่ 1) 30 นาที (ใบที่ 2) 60 นาที (ใบที่ 3) และ 90 นาที (ใบที่ 4) ตามลำดับ กรองและปรับปริมาตรให้เท่ากับปริมาตรก่อนสกัด นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV/Visible Spectrophotometer และนำข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำย้อม

วิธีการเตรียมน้ำย้อมดอกดาวเรืองโดยเทคนิคไมโครเวฟ เริ่มจากนำดอกดาวเรืองมาตัดเอาเฉพาะในส่วนของกลีบดอกสีเหลือง โดยชั่งน้ำหนักดอกดาวเรืองต่อน้ำกลั่นเป็น 2 กรัม ต่อ 20 มิลลิลิตร (ในอัตราส่วน 1:10) ใส่ในภาชนะสำหรับไมโครเวฟ 5 ใบ หลังจากนั้น ให้ความร้อนจากเครื่องไมโครเวฟโดยใช้วัตต์คงที่ 800 W เป็นเวลา 5 นาที (ใบที่ 1) 7 นาที (ใบที่ 2) 9 นาที (ใบที่ 3) 11 นาที (ใบที่ 4) และ 13 นาที (ใบที่ 5) ตามลำดับ กรองและปรับปริมาตรให้เท่ากับปริมาตรก่อนสกัด นำไปวัดค่าการดูดกลืนด้วยเครื่อง UV/Visible Spectrophotometer และนำข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำย้อม

3. การศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับสีของผ้าฝ้ายในน้ำย้อมดอกดาวเรืองที่เตรียมด้วยเทคนิคไมโครเวฟที่เวลาและอุณหภูมิต่างกัน

เริ่มจากการเตรียมน้ำย้อมดอกดาวเรืองด้วยเทคนิคไมโครเวฟโดยใช้วัตต์คงที่ 800 วัตต์ และเวลาคงที่ 7 นาที ซึ่งเป็นสภาวะที่ดีที่สุด (ผลจากข้อ 2) เตรียมดอกดาวเรืองสด: น้ำกลั่น (100 กรัม : 1,000 มิลลิลิตร) ใส่ไมโครเวฟตามสภาวะที่กำหนด แล้วกรองเอากากดอกดาวเรืองออก แบ่งใส่ขวดรูปชมพู่ ใบละ 20 มิลลิลิตร ทั้งหมด 45 ใบ ได้น้ำย้อมดอกดาวเรืองสำหรับทดสอบ

การย้อมด้วยฝ้ายด้วยน้ำย้อมดาวเรืองโดยอุณหภูมิที่ใช้ย้อมแตกต่างกัน 5 ค่า ดังนี้ 35, 45, 55, 65 และ 75 องศาเซลเซียส และแต่ละอุณหภูมิใช้เวลาย้อมต่างกัน 9 ค่า ดังนี้ 0, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 45 และ 60 นาที เริ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ขวดที่ 1 ย้อมที่ 0 นาที, ขวดที่ 2 ย้อมที่ 3 นาที, ขวดที่ 3 ย้อมที่ 5 นาที ขวดที่ 4 ย้อมที่ 10 นาที ขวดที่ 5 ย้อมที่ 15 นาที ขวดที่ 6 ย้อมที่ 20 นาที ขวดที่ 7 ย้อมที่ 30 นาที ขวดที่ 8 ย้อมที่ 45 นาที ขวดที่ 9 ย้อมที่ 60 นาที และที่อุณหภูมิต่อไปทำเช่นเดียวกับที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สภาวะที่กำหนด (อุณหภูมิและเวลา) สำหรับการย้อมด้วยฝ้าย

อุณหภูมิ (°C)	เวลาการย้อม (นาที)								
	0	3	5	10	15	20	30	45	60
35	35-0	35-3	35-5	35-10	35-15	35-20	35-30	35-45	35-60
45	45-0	45-3	45-5	45-10	45-15	45-20	45-30	45-45	45-60
55	55-0	55-3	55-5	55-10	55-15	55-20	55-30	55-45	55-60
65	65-0	65-3	65-5	65-10	65-15	65-20	65-30	65-45	65-60
75	75-0	75-3	75-5	75-10	75-15	75-20	75-30	75-45	75-60

เมื่อย้อมครบตามกำหนดเวลาให้เอาด้ายฝ้ายออกและให้น้ำย้อมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV/Visible Spectrophotometer) ที่ $\lambda_{\max}$ ที่ 352 นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ (Absorbent) ไปคำนวณหาค่าการดูดซับสี (Dye exhaustion, $1-A/A_0$)

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่เวลาใดๆ

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่เวลาเริ่มต้น

4. การศึกษาการดูดซับสีย้อมดอกดาวเรืองที่มีสารช่วยย้อม (Mordant) บนด้ายฝ้าย

วิธีการย้อมด้วยมอร์แดนต์ 2 แบบ ได้แก่ การย้อมมอร์แดนต์ก่อนย้อมสี (Pre-Mordanting) และการย้อมมอร์แดนต์หลังย้อมสี (Post-Mordanting) โดยใช้มอร์แดนต์ 2 ชนิด ได้แก่ เกลือแกง และ สารส้ม โดยเปรียบเทียบระหว่าง 2 ความเข้มข้น ใช้สำหรับย้อมด้ายฝ้าย 5 กรัม คือ 0.5 %o.w.f. และ 1.0 %o.w.f. น้ำหนักแสดงในตารางที่ 2 ละลายด้วยน้ำ 50 มิลลิลิตร

ตารางที่ 2 น้ำหนักของเกลือโลหะมอร์แดนท์ที่ใช้ย้อม

ชนิดของมอร์แดนท์	เกลือ		น้ำหนักของเกลือโลหะมอร์แดนท์ (g)	
	สูตร	M.W.	0.5% o.w.f.	1.0% o.w.f.
เกลือแกง (Na^+)	NaCl	58.50	0.0635	0.1271
สารส้ม (Al^{3+})	$\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	474.39	0.4392	0.8785

*% o.w.f. (% on weight of fiber): เปอร์เซนต์ของมอร์แดนท์บนเส้นด้าย

4.1 การย้อมด้ายฝ้ายที่ไม่ผ่านการฟอกขาวด้วยน้ำย้อมสกัดจากดอกดาวเรือง

การย้อมมอร์แดนท์ก่อนย้อมสี (Pre-Mordanting) การย้อมเตรียมด้ายฝ้ายไม่ฟอกขาว 5 กรัม ต่อปริมาตรสารละลายมอร์แดนท์ 50 มิลลิตร (ในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) กำหนดอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เติมสารละลายมอร์แดนท์ตามตารางที่ 2 และนำไปย้อมโดยเขย่าเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นย้อมต่อน้ำย้อมดอกดาวเรือง (เทคนิคไมโครเวฟ) ก่อนย้อมแบ่งน้ำย้อมไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (A_0) ก่อน หลังจากนั้นย้อมที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนครบกำหนด 60 นาที หลังจากนั้นนำน้ำย้อมที่ได้หลังจากการย้อมไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (A_1) คำนวณค่าการดูดซับ ทำวิธีการเดียวกันแต่เปลี่ยนชนิด และความเข้มข้นของมอร์แดนท์

การย้อมมอร์แดนท์หลังย้อมสี (Post-Mordanting) นำน้ำย้อมดอกดาวเรืองเตรียมด้วยเทคนิคไมโครเวฟ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (A_0) หลังจากนั้นนำด้ายฝ้าย 5 กรัม ย้อมที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนครบ 60 นาที แล้วนำน้ำย้อมดอกดาวเรืองหลังย้อมไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (A_1) หลังจากนั้นให้นำด้ายฝ้ายที่ย้อมสีแล้วนำไปย้อมด้วยสารละลายมอร์แดนท์ต่อ (ในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เติมมอร์แดนท์ Al^{3+} ดังตารางที่ 2 ย้อม 30 นาที ทำวิธีการเดียวกันแต่เปลี่ยนชนิด และความเข้มข้นของมอร์แดนท์

4.2 การย้อมด้ายฝ้ายที่ผ่านการฟอกขาวด้วยน้ำย้อมดอกดาวเรือง ทำวิธีการเดียวกับ ข้อ 4.1 เปลี่ยนเฉพาะด้ายฝ้ายที่ฟอกขาว

5. การศึกษาสารจากน้ำย้อมดอกดาวเรือง**5.1 การสกัดสารจากน้ำย้อม**

เตรียมน้ำย้อมดอกดาวเรืองด้วยเทคนิคการให้ความร้อนใช้วิธีเดียวกับการใช้ย้อมด้ายฝ้าย หลังจากนั้นสกัดด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบแบ่งส่วน โดยใช้เอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายในการดึงสารสำคัญออกมาจากน้ำย้อม ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบสูญญากาศ ได้สารสกัดหยาบ และตกผลึกใหม่ด้วยส่วนผสมเฮกเซนและเอทิลอะซิเตท

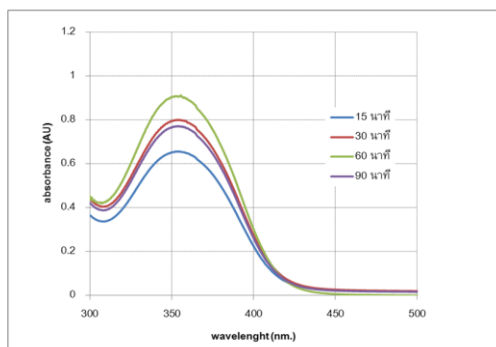
5.2 การวิเคราะห์โครงสร้างสารด้วยเทคนิคทางสเปกโตรสโคปี นำสารที่ได้ไปวัดและวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV IR NMR MS

ผลการวิจัย

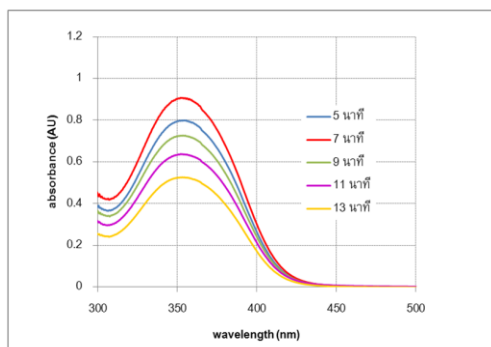
การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำย้อมดอกดาวเรืองที่เตรียมด้วยเทคนิคให้ความร้อนและไมโครเวฟที่เวลาต่างกัน การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำย้อม

ศึกษาจากค่าการดูดกลืนแสงของน้ำย้อมเพื่อวัดปริมาณสารสีของน้ำย้อมที่สกัดด้วยเทคนิคและสภาวะที่ต่างกันโดยวัดจากเครื่อง UV/Visible Spectrophotometer แสดงผลดังภาพที่ 1 พบว่าสารสกัดจากดอกดาวเรืองที่สกัดด้วยวิธีให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15, 30, 60 และ 90 นาที แสดงค่าดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวสูงสุด (λ_{max}) 354 นาโนเมตร เท่ากันทุกค่า และพบว่าการดูดกลืนแสงสูงสุดคือ 0.91 โดยใช้เวลา 60 นาที และค่าการดูดกลืนแสงต่ำสุดที่ 0.65 ใช้เวลา 15 นาที จากการเปรียบเทียบกันเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นจนถึง 60 นาที หลังจากนั้นค่าจะลดลง แสดงว่าถ้าใช้เวลานานอาจทำให้สารเกิดการสลายตัวจึงทำให้การค่าลดลง

ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของน้ำย้อมดอกดาวเรืองสกัดโดยเทคนิคไมโครเวฟ ที่กำลังไฟฟ้า 800 วัตต์ เป็นเวลา 5, 7, 9, 11 และ 13 นาที พบว่าการดูดกลืนแสงสูงสุด 0.90 โดยใช้เวลา 7 นาที และค่าการดูดกลืนแสงต่ำสุดที่ 0.52 ที่การสกัดด้วยเวลา 13 นาที จากการเปรียบเทียบกันเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นจนถึง 7 นาที หลังจากนั้นค่าจะลดลง แสดงว่าถ้าใช้เวลานานอาจทำให้สารเกิดการสลายตัวจึงทำให้การค่าลดลงเช่นเดียวกับเทคนิคให้ความร้อน



เทคนิคให้ความร้อน



เทคนิคไมโครเวฟ

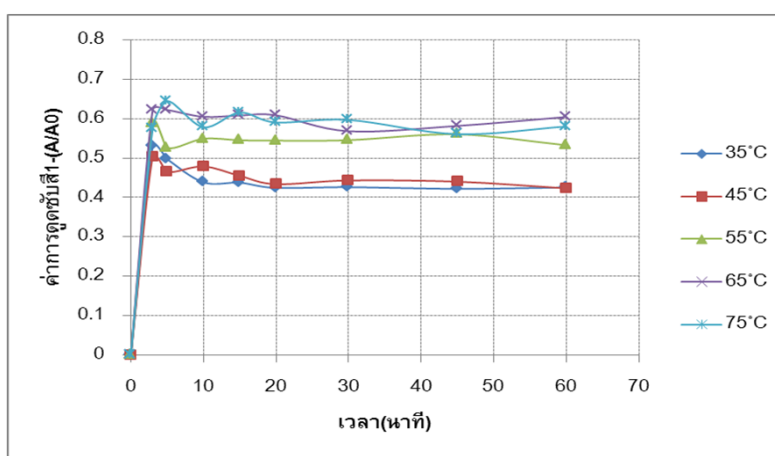
ภาพที่ 1 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของน้ำย้อมสกัดจากดอกดาวเรืองด้วยเทคนิคให้ความร้อนและไมโครเวฟด้วยเวลาที่แตกต่างกัน

จากผลการทดลองพบว่า น้ำย้อมดอกดาวเรืองสกัดด้วยเทคนิคให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส พบว่าการสกัดด้วยเทคนิคความร้อนเป็นเวลา 60 นาที แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่สูงที่สุด และผลการสกัดด้วยเทคนิคไมโครเวฟ ที่กำลังไฟฟ้า 800 วัตต์ เป็นเวลา 7 นาที ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเท่ากัน คือ 0.90 โดยเทคนิคการสกัดด้วยไมโครเวฟใช้เวลาในการสกัดน้อยกว่า 8.57 เท่า ทั้งนี้เนื่องจากเทคนิคไมโครเวฟเป็นการทำให้โมเลกุลที่อยู่ข้างในเกิดการสั่นสะเทือนจึงเกิดความร้อนขึ้นอย่างรวดเร็ว จึงทำให้มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับการสกัดด้วยความร้อน

และจากการเปรียบเทียบกันเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น หลังจากนั้นค่าจะลดลง แสดงว่าถ้าใช้เวลานานอาจทำให้สารเกิดการสลายตัวจึงทำให้การค่าลดลงเช่นเดียวกับเทคนิคให้ความร้อน ดังนั้นจึงเลือกวิธีการสกัดด้วยเทคนิคไมโครเวฟทำการสกัดน้ำย้อมในการทดลองขั้นต่อไป

การศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับสีของด้ายฝ้ายในน้ำย้อมดอกดาวเรืองที่เตรียมด้วยเทคนิคไมโครเวฟที่เวลาและอุณหภูมิต่างกัน

ในการศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมต่อการย้อมสีดอกดาวเรืองสกัดด้วยเทคนิคไมโครเวฟบนด้ายฝ้ายเนื่องจากใช้เวลาน้อยกว่าแต่มีประสิทธิภาพเท่ากัน โดยทำการย้อมสีด้ายฝ้ายที่อุณหภูมิต่างกัน โดยใช้อุณหภูมิดังนี้ 35, 45, 55, 65 และ 75 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่างกัน ตั้งแต่ 3 ถึง 60 นาที ได้ผลการดูดซับสี (Dye exhaustion, $1-(A/A_0)$) ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 กราฟค่าการดูดซับสีของด้ายฝ้ายในน้ำย้อมดอกดาวเรืองที่อุณหภูมิและเวลาที่ต่างกัน

ผลจากภาพที่ 2 การดูดซับสีของด้ายฝ้ายมีการดูดซับเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 5 นาทีแรก หลังจากนั้นก็มีแนวโน้มว่าจะเข้าสู่สภาวะคงที่ เมื่อเวลาผ่านไป 20 นาที หลังจากนั้นค่าจะคงที่ และที่อุณหภูมิต่างกันแสดงค่าการดูดซับสีที่แตกต่างกัน โดยเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น โดยที่อุณหภูมิที่ 65 และ 75 องศาเซลเซียส แสดงค่าที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้น อุณหภูมิที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ดีกว่าเนื่องจากลดการสลายตัวของสารในน้ำย้อมดอกดาวเรือง

เมื่อพิจารณาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่จะเลือกใช้ย้อมด้ายฝ้ายคืออุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ย้อมสามารถใช้ตั้งแต่ 20-60 นาที การย้อมที่เวลานานพอจะทำให้โมเลกุลของสีแพร่เข้าไปในเส้นใยได้ลึกมากขึ้น ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิในการย้อม 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที โดยทำการย้อมด้ายฝ้ายที่ไม่ฟอกขาวและฟอกขาว

การศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับสีของด้ายฝ้ายในน้ำย้อมดอกดาวเรืองที่มีมอร์แดนท์

ในการศึกษาผลของมอร์แดนท์และวิธีการย้อมที่มีมอร์แดนท์ในการย้อมสีด้ายฝ้ายด้วยน้ำย้อมดอกดาวเรือง ดำเนินการย้อมด้วยมอร์แดนท์ 2 วิธี คือ การย้อมมอร์แดนท์ก่อนย้อมสี (Pre-Mordanting) และการย้อมมอร์แดนท์หลังย้อมสี (Post-Mordanting) โดยทำการย้อมสีที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที ใช้มอร์แดนท์และความเข้มข้นที่ต่างกัน ทำการย้อมเส้นด้ายที่ผ่านการฟอกและไม่ผ่านการฟอก

การย้อมด้ายฝ้ายที่ไม่ผ่านการฟอกขาวด้วยน้ำย้อมสกัดจากดอกดาวเรือง

การย้อมสีด้ายฝ้ายที่ไม่ผ่านการฟอกด้วยน้ำย้อมดอกดาวเรืองโดยเปรียบเทียบการไม่ใช้และใช้มอร์แดนท์ โดยนำน้ำย้อมหลังการย้อมสีไปวัดค่าการดูดกลืนแสง และคำนวณค่าการดูดซับสีและนำไปวัดสีตามระบบ CIELAB (1976) ผลการดูดซับสีและค่าการวัดสีแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการดูดซับสีของด้ายฝ้ายในน้ำย้อมดอกดาวเรืองที่มีมอร์แดนท์

มอร์แดนท์	การย้อม มอร์แดนท์	ความ เข้มข้น (o.w.f.)	สี	เศษส่วน การดูดซับ	CIELAB(1976)		
					L*	a*	b*
ด้ายไม่ย้อมสี				0	76.35	3.25	19.15
ไม่ใส่		0		0.52	74.40	0.15	0.15
อลูมิเนียม	ก่อน	0.5		0.75	65.30	10.00	57.00
		1		0.81	66.40	11.35	59.00
	หลัง	0.5		0.71	66.35	10.60	57.90
		1		0.63	67.65	10.10	57.00
โซเดียม	ก่อน	0.5		0.66	72.90	0.75	35.50
		1		0.63	71.50	1.40	33.90
	หลัง	0.5		0.63	71.80	1.50	33.05
		1		0.63	72.25	1.50	33.40

% o.w.f. (% on weight of fiber) : เปอร์เซ็นต์ของมอร์แดนท์บนเส้นด้าย

L* = 100 สีขาว, 50 = สีเทา, 0 = สีดำ

a* ค่าบวก = สีแดง, a* ค่าลบ = สีเขียว

b* ค่าบวก = สีเหลือง, b* ค่าลบ = สีนํ้าเงิน

ผลการดูดซับสีจากตารางที่ 3 พบว่าการใช้มอร์แดนท์ในการย้อมสีด้ายฝ้ายที่ไม่ผ่านการฟอก ให้ค่าการดูดซับสีเพิ่มขึ้นโดยมีการดูดซับสีเพิ่มขึ้น 11-29 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ค่า (L*) ลดลง 1.5-8.0 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เฉดสีของด้ายฝ้ายเข้มขึ้น ค่า (a*) มีค่าเพิ่มขึ้น 0.6-11.2 เปอร์เซ็นต์ ค่า (b*) มีค่าเพิ่มขึ้น 33.3-58.9 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับไม่ใส่มอร์แดนท์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง อลูมิเนียม กับ โซเดียม พบว่า

อลูมิเนียมมีการดูดซับสีได้ดีกว่าโซเดียม และจากรูปเจดสีของเส้นด้ายพบว่าการใช้มอร์แดนท์ให้เจดสีที่เข้มข้นเมื่อเทียบกับการย้อมโดยไม่ใช้มอร์แดนท์ และการใช้อลูมิเนียมให้เจดสีที่เข้มข้นกว่าการใช้โซเดียม และเมื่อเทียบความเข้มข้นของมอร์แดนท์ พบว่า 0.5 % และ 1.0 % o.w.f. ผลการดูดซับไม่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของมอร์แดนท์และวิธีการย้อม

การย้อมด้ายฝ้ายที่ผ่านการฟอกขาวด้วยน้ำย้อมดอกดาวเรือง

การย้อมสีด้ายฝ้ายที่ผ่านการฟอกด้วยน้ำย้อมดอกดาวเรืองโดยเปรียบเทียบการใช้และไม่ใช้มอร์แดนท์ โดยนำน้ำย้อมหลังการย้อมสีไปวัดค่าการดูดกลืนแสง และคำนวณค่าการดูดซับสีและนำไปวัดสีตามระบบ CIELAB (1976) ผลการดูดซับสีและค่าการวัดสีแสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการดูดซับสีจากน้ำย้อมดอกดาวเรืองของการย้อมด้ายฝ้ายที่ผ่านการฟอกขาวโดยใช้มอร์แดนท์ ต่างชนิดกัน

มอร์แดนท์	การย้อมมอร์แดนท์	ความเข้มข้น (o.w.f.)	สี	เศษส่วนการดูดซับ	CIELAB(1976)		
					L*	a*	b*
ด้ายไม่ย้อมสี				0	80.50	2	14.7
ไม่ใส่		0		0.56	69.65	3.15	35.50
อลูมิเนียม	ก่อน	0.5		0.81	68.75	9.25	60.25
		1		0.84	66.90	10.00	58.10
	หลัง	0.5		0.66	66.20	9.65	55.10
		1		0.70	68.00	9.60	57.50
โซเดียม	ก่อน	0.5		0.70	69.25	2.65	30.75
		1		0.67	65.70	3.80	29.55
	หลัง	0.5		0.71	73.05	3.35	31.15
		1		0.67	69.35	3.55	29.90

% o.w.f. (% on weight of fiber) : เปอร์เซนต์ของมอร์แดนท์บนเส้นด้าย

L* = 100 สีขาว, 50 = สีเทา, 0 = สีดำ

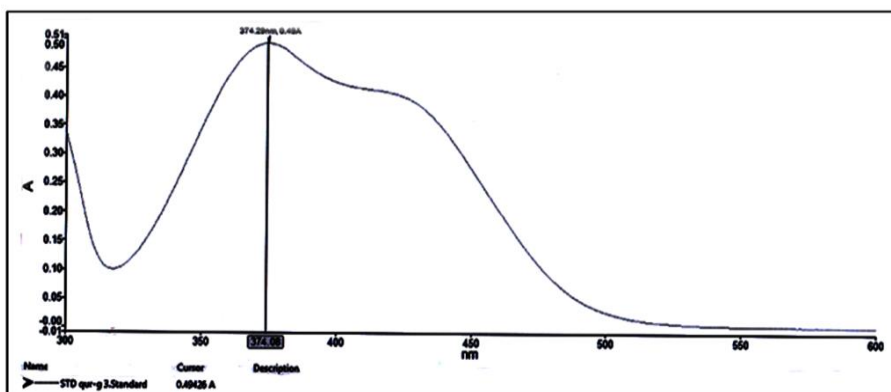
a* ค่าบวก = สีแดง, a* ค่าลบ = สีเขียว

b* ค่าบวก = สีเหลือง, b* ค่าลบ = สีม่วง

ผลการดูดซับสีจากตารางที่ 4 พบว่าการใช้มอร์แดนท์ในการย้อมสีด้ายฝ้ายที่ไม่ผ่านการฟอก ให้ค่าการดูดซับสีเพิ่มขึ้นโดยมีเปอร์เซ็นต์การดูดซับสีเพิ่มขึ้น 10-28 เปอร์เซนต์ ส่งผลให้ค่า (L*) ลดลง 0.3-3.5 เปอร์เซนต์ ทำให้เจดสีของด้ายฝ้ายเข้มข้น ค่า (a*) มีค่าเพิ่มขึ้น 0.2-6.9 เปอร์เซนต์ ค่า (b*) มีค่าเพิ่มขึ้น 19.6-24.8 เปอร์เซนต์ เมื่อเทียบกับไม่ใส่มอร์แดนท์

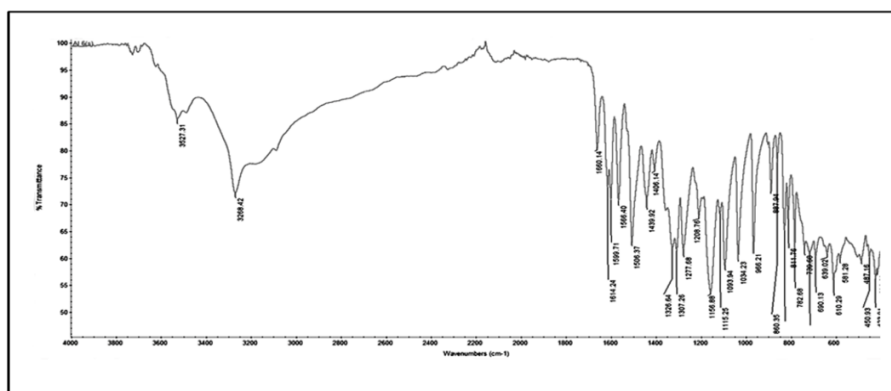
เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอะลูมิเนียม กับโซเดียม พบว่าอะลูมิเนียมมีการดูดซับได้ดีกว่าโซเดียม และจากรูปเจดสีของเส้นด้ายพบว่าการใช้มอร์แดนท์ให้เจดสีที่เข้มข้นเมื่อเทียบกับการย้อมโดยไม่ใช้มอร์แดนท์ และการใช้อะลูมิเนียมให้เจดสีที่เข้มกว่าการใช้โซเดียมและย้อมมอร์แดนท์ก่อนดีกว่าย้อมหลังสี และเมื่อเทียบความเข้มข้นของมอร์แดนท์ พบว่า 0.5 % และ 1.0 % o.w.f. ผลการดูดซับไม่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของมอร์แดนท์ และวิธีการย้อม

ผลการศึกษาโครงสร้างสารจากน้ำย้อมดอกดาวเรือง



ภาพที่ 3 UV spectrum ของสารจากน้ำย้อมดอกดาวเรือง

จากข้อมูล UV spectrum แสดงค่าการดูดกลืนในช่วงความยาวสูงสุด 374 นาโนเมตร ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นช่วงเดียวกับสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

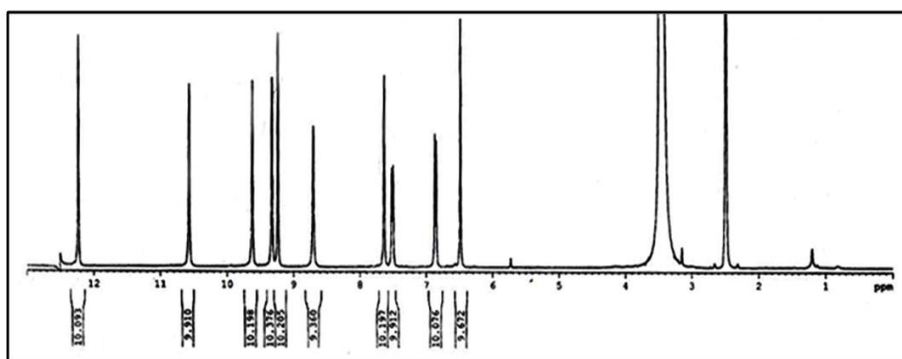


ภาพที่ 4 IR spectrum ของสารจากน้ำย้อมดอกดาวเรือง

ข้อมูลจากภาพที่ 4 สรุปข้อมูลในตารางที่ 5 ซึ่งตรงกับสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

ตารางที่ 5 แสดงค่าหมู่ฟังก์ชันต่างๆ สเปกตรัมIR ของสารจากน้ำย้อมดอกดาวเรือง

สัญญาณ (cm^{-1})	หมู่ฟังก์ชัน
3527, 3268	-OH
1660	-C=O (α,β -unsaturated ketone)
1599, 1506	-C=C-(aromatic)
1326	-C-O

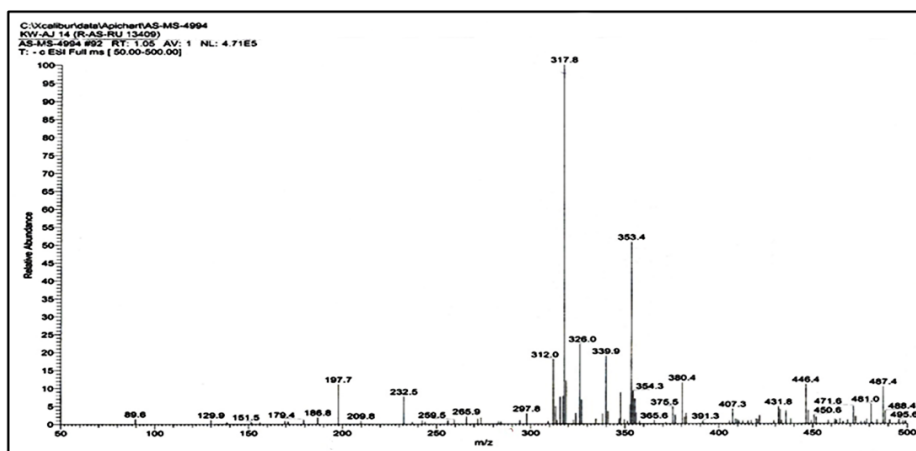


ภาพที่ 5 NMR spectrum ของสารจากน้ำย้อมดอกดาวเรือง

ตารางที่ 6 ค่า chemical shift บน ^1H -NMR สเปกตรัมของสารจากน้ำย้อม

ตำแหน่งของโปรตอน (^1H)	Chemical shift (ppm)
2'	7.51 (d, J=8.4 Hz)
3'	6.86 (d, J=8.4 Hz)
6'	6.48 (s)
8	7.63 (s)
3-OH	8.70 (s)
5-OH	9.23 (s)
5-OH	12.23 (s)
6-OH	9.32 (s)
7-OH	9.62 (s)
4'-OH	10.57 (s)

ข้อมูลจากภาพที่ 5 สรุปในตารางที่ 6 ซึ่งข้อมูลตรงกับโครงสร้าง quercetagenin ซึ่งจัดเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์

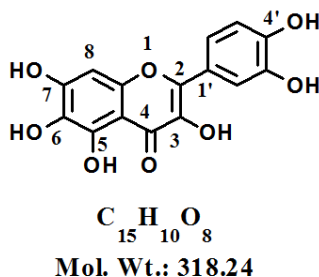


ภาพที่ 6 MS spectrum ของสารจากน้ำย้อมดอกดาวเรือง

ข้อมูลจากสเปกตรัมภาพที่ 6 แสดงค่า m/z : ESMS (+ve) 317.8 [M-1]⁻ (100) ซึ่งตรงกับโครงสร้าง quercetagenin จัดเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (อรชร และกาญจนา, 2558)

สารที่แยกได้จากน้ำย้อมมีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง ละลายได้ดีใน DMSO จากข้อมูลทางสเปกโตรสโคปี UV spectrum แสดงค่าการดูดกลืนที่สูงสุดที่ความยาวคลื่น 374 นาโนเมตร จาก IR spectrum แสดงค่า 3527 cm⁻¹ และ 3268 cm⁻¹ แสดงหมู่ hydroxyl group (-OH) ค่า 1660 cm⁻¹ แสดงหมู่ (α,β-unsaturated ketone) (-C=O) และค่า 1599, 1506 cm⁻¹ แสดงแอโรมาติก ข้อมูล NMR spectrum และยืนยันโครงสร้างด้วยค่า m/z : ESMS (+ve) 317.8 [M-1]⁻ (100)

สรุปว่าสารที่แยกได้จากน้ำย้อมดอกดาวเรือง คือ quercetagenin แสดงโครงสร้างดังภาพที่ 7 และตรงกับข้อมูลที่เคยรายงาน (Ying, 2012 และกาญจนา, 2557)



ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของ quercetagenin

อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การสกัดน้ำย้อมดอกดาวเรืองด้วยเทคนิคที่ต่างกัน ผลการทดลองพบว่าสกัดด้วยเทคนิคให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 60 นาที และเทคนิคไมโครเวฟที่ 800 วัตต์ ใช้เวลา 7 นาที มีประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกัน แต่เทคนิคการสกัดด้วยไมโครเวฟใช้เวลาในการสกัดน้อยกว่าถึง 8.57 เท่า แต่มีข้อจำกัดเยอะกว่า และค่าใช้จ่ายสูงกว่า

เมื่อพิจารณาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่จะเลือกใช้ย้อมด้วยฝ้ายคืออุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ย้อมสามารถใช้ตั้งแต่ 20-60 นาที การย้อมที่เวลานานพอจะทำให้โมเลกุลของสีแพร่เข้าไปใน เส้นใยได้ลึกมากขึ้น ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิในการย้อม 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

การใช้มอร์แดนท์ในการย้อมสีด้วยฝ้าย (ปณิธาน และเมตตา, 2557) ให้ค่าการดูดซับสีเพิ่มขึ้นโดยมีเปอร์เซ็นต์การดูดซับสีเพิ่มขึ้น 11-29 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ค่า (L^*) ลดลง 0.3-8.0 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เจดสีของฝ้ายเข้มขึ้น ค่า (a^*) มีค่าเพิ่มขึ้น 0.2-11.2 เปอร์เซ็นต์ ค่า (b^*) มีค่าเพิ่มขึ้น 19.6-58.9 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับไม่ใส่มอร์แดนท์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง อะลูมิเนียม กับ โซเดียม พบว่าอะลูมิเนียมมีการดูดซับสีได้ดีกว่าโซเดียม และจากรูปเจดสีของเส้นด้ายพบว่าการใช้มอร์แดนท์ให้เจดสีที่เข้มขึ้นเมื่อเทียบกับการย้อมโดยไม่ใช้มอร์แดนท์ และการใช้อะลูมิเนียมให้เจดสีที่เข้มกว่าการใช้โซเดียมและย้อมมอร์แดนท์ก่อนดีกว่าหลังการย้อมสี และเมื่อเทียบความเข้มข้นของมอร์แดนท์ พบว่าผลการดูดซับไม่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของมอร์แดนท์ และวิธีการย้อม

ในการศึกษาสารสำคัญในน้ำย้อมดอกดาวเรืองโดยเริ่มต้นสกัดดอกดาวเรืองด้วยน้ำ และสกัดสารสกัดน้ำที่ได้อีกครั้งด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท หลังจากนั้นตกผลึกใหม่ได้สารสีเหลืองอ่อน เมื่อนำไปพิสูจน์โครงสร้างด้วยข้อมูลทางสเปกโตรสโกปีตรงกับ quercetagenin (กาญจนา, 2557) โดยมีหมู่คีโตนที่ตำแหน่งที่ 4 และมีหมู่ไฮดรอกซิล ($-OH$) จำนวน 6 หมู่ ทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนได้ดีและสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ Al^{3+} จากสารส้ม ดังนั้นทำให้การย้อมเส้นด้ายด้วยน้ำย้อมดอกดาวเรืองที่ใส่มอร์แดนท์มีสีเหลืองเข้มขึ้นเมื่อเทียบกับไม่ใส่

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้สนับสนุนทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

เอกสารอ้างอิง

- กาญจนา วงศ์กระจ่าง และนันทวัน ปานอ่วม. (2557). ฟลาโวนอยด์:สารต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาวเรือง รายงานสืบเนื่องการประชุมทางวิชาการระดับชาติและนานาชาติ มหาวิทยาลัยกำแพงเพชร. 265-274.
- ปณิธาน สุระยศ และเมตตา อุ่นเจริญ. (2557). ผลของเกลือและมอร์แดนท์ต่อการดูดซับสีสกัดจากใบมะม่วงบนด้ายฝ้าย. รายงานสืบเนื่องการประชุมทางวิชาการระดับชาติและนานาชาติ มหาวิทยาลัยกำแพงเพชร. 292-296.
- วีราภรณ์ มิ่งเมือง. (2543). การผลิตสารแซนโทฟิลจากดอกดาวเรือง. ปัญหาพิเศษภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- สุกานดา พรหมเทพ. (2549). การศึกษาการสกัดสีย้อมธรรมชาติจากเมล็ดคำแสดโดยใช้ตัวทำละลายผสมบางชนิด. ปัญหาพิเศษภาควิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- อนันต์เสวก เหวซึ่งเจริญ. (2543). คู่มือย้อมสีธรรมชาติฉบับชาวบ้าน สีเขียว สีน้ำตาล และสีดำเล่ม 1. เชียงใหม่, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- อรชร ไอสน์เทียะ และกาญจนา วงศ์กระจ่าง. (2558). การศึกษาระบบตัวทำละลายของการสกัดสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดของดอกดาวเรือง. วารสารวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์. 7(7): 28-40.
- Googwin, T.W. (1976). Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. New York : Academicpress Inc.
- Griffiths, J. C. (2005). Coloring Food & Beverages. Food technology. 59(5): 38-44.
- Guinot, P., Gargadenec, A., Valette, G., Fruchier, A. and Andary, C. (2008). Primary Flavonoids in Marigold Dye: Extraction, Structure and Involvement in the Dyeing Process. Phytochem. Anal. 19: 46-51.
- Kumar, J. K. and Sinha, A. K. (2003). Resurgence of Natural Colourants: A Holistic View. Natural Product Letters. 18(1): 59-84.
- Kaiser, R. (1993). Quantitative Analyses of Flavonoids in Yellow Dye Plant Species Weld (*Reseda luteola* L.) and Sawwort (*Serratula tinctoria* L.). Angew. Bot.. 67: 128-131.
- Puntener, A. and Cambell, P. (2003). European Ban on Certain Azo Dyes. Leather International. 50-51.
- Siva, R. (2007). Status of Natural Dyes and Dye-Yielding Plants in India. Current science. 92(7): 916-925.
- Sowbhagya, H. B., Sampathu, S. and Krishnamurthy, R. N. (2004). Natural Colorant from Marigold-Chemistry and Technology. Food Review International. 20(1): 33 – 50.
- Watters, C. and Cantero, A. (1964). Rat Liver Parenchymal Cell Function during Azo Dye Carcinogenesis. Cancer Research. 25: 67-71.
- Ying, G., Liu, X., He W.H., Xu, H.G., Yuan, F. and Gao, Y.X. (2012). Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue. Fitoterapia. 83: 481– 489.
- Zeb, A. and Mehmood, S. (2004). Carotenoids Contents from Various Sources and Their Potential Health Application. Pakistan journal of Nutrition. 3(3): 199 – 204.