

NGRC29

» วิทยาลัยการศึกษาระดับบัณฑิตยศึกษา มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง เชียงราย 29



THE NATIONAL GRADUATE RESEARCH CONFERENCE

October 24-25, 2013

Mae Fah Luang University, Chiang Rai

HOME

15 วิทยาลัยการศึกษาระดับบัณฑิตยศึกษา

35 วิทยาลัยการศึกษาระดับบัณฑิตยศึกษา

17 วิทยาลัยการศึกษาระดับบัณฑิตยศึกษา

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ

Full Papers

Office of Graduate Studies, Mae Fah Luang University, Mueang, Chiang Rai 57100

Tel: 0-5391-6137, 0-5391-6140

Fax: 0-5391-6141

Email: ngrc29@mfl.ac.th

Mae Fah Luang University COPYRIGHT © 2013



The 29th National Graduate Research Conference

เรื่อง “การวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา: หนทางพัฒนาประเทศสู่อาเซียน”

(Postgraduate Research Studies the Country's Development Pathway to ASEAN)

วันที่ 24-25 ตุลาคม 2556

ณ อาคารพลตำรวจเอก เกา สารสิน (C5) และอาคารปรีคลินิก (M3)

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย

องค์กรที่สนับสนุนการจัดงาน (Organization Committee)

1. สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา
2. ที่ประชุมคณะผู้บริหารบัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยของรัฐ และมหาวิทยาลัยในกำกับของรัฐ
3. สภาคณบดีบัณฑิตวิทยาลัยแห่งประเทศไทย
4. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

รายนามผู้ทรงคุณวุฒิ (Technical Committee)

1. คณะกรรมการคัดเลือกผลงานวิชาการ และผู้ดำเนินรายการในห้องบรรยาย
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

1.1 สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

- | | |
|--|------------------|
| 1.1.1 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรัตน์ ละภูเขียว | ประธานกรรมการ |
| 1.1.2 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกชัย ชูเกียรติโรจน์ | รองประธานกรรมการ |
| 1.1.3 รองศาสตราจารย์ ดร. ดร. วัณณศิริเวช | กรรมการ |
| 1.1.4 รองศาสตราจารย์ ดร. ชาลี นาวานุเคราะห์ | กรรมการ |
| 1.1.5 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัชรี พรบดีเวช | กรรมการ |
| 1.1.6 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สิริพัชร สุธีรภัทรานนท์ | กรรมการ |

1.1.7 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุธี วัฒนศิริเวช	กรรมการ
1.1.8 อาจารย์ ดร. อมร โอวาทกรกิจ	กรรมการ
1.1.9 อาจารย์ ดร. ปเนต มโนมัยวิบูล	กรรมการ
1.1.10 อาจารย์ ดร. อภิสม อินทรลาวัณย์	กรรมการ
1.1.11 อาจารย์ ดร. จันทรรักษ์ โตวรานนท์	กรรมการ
1.1.12 อาจารย์ ดร. รุ่งโรจน์ นิลทอง	กรรมการ
1.1.13 อาจารย์ ดร. สุรีย์พร นนทชัยภูมิ	กรรมการ
1.1.14 อาจารย์ ดร. ปิยะนุช ศิริวัฒน์	กรรมการ
1.1.15 อาจารย์ ดร. กันยพัชร์ ไตรทรัพย์	กรรมการ
1.1.16 อาจารย์ ดร. ชุติพร ถนอมศิลป์	กรรมการ
1.1.17 อาจารย์ ดร. ณัฐกานต์ สร้อยกาบแก้ว	กรรมการ
1.1.18 อาจารย์ ดร. ประภัสสร อึ้งวณิชยพันธ์	กรรมการ
1.1.19 อาจารย์ ดร. สมฤดี นิลทอง	กรรมการ
1.1.20 อาจารย์ ดร. ชีรเดช หมูคำ	กรรมการ
1.1.21 อาจารย์ ดร. สยาม ภพลือชัย	กรรมการ
1.1.22 อาจารย์ ดร. ชีรวิทย์ วัตรจุจิงค์	กรรมการ
1.1.23 อาจารย์ ดร. ชีราพันธ์ มาจันทร์	กรรมการ
1.1.24 อาจารย์ ดร. ปิยนตร จุยฉาย	กรรมการ
1.1.25 อาจารย์ ดร. อุไรวรรณ อินตะถา	กรรมการ
1.1.26 อาจารย์ ดร. กาญจนา วัฒละเอียด	กรรมการ
1.1.27 อาจารย์ ดร. อรวรรณ สุวรรณทอง	กรรมการ
1.1.28 อาจารย์ ดร. อนันต์ อึ้งวณิชยพันธ์	กรรมการ

1.2 สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ

1.2.1 อาจารย์ ดร. เต๋นพงษ์ วงศ์วิจิตร	ประธานกรรมการ
1.2.2 อาจารย์ ดร. จตุพงศ์ สิงหราไชย	กรรมการ
1.2.3 อาจารย์ ดร. กรกช ทาตั้ง	กรรมการ
1.2.4 อาจารย์ ดร. ไพโรจน์ จันทรมณี	กรรมการ
1.2.5 อาจารย์ ดร. สุภาภรณ์ ตรงสกุล	กรรมการ
1.2.6 อาจารย์ ดร. มาลี ภูมิภาค	กรรมการ



การประยุกต์ใช้สารสกัดดอกอัญชันเป็นอินดิเคเตอร์สำหรับการไทเทรตกรด-เบส Application of Butterfly Pea Flower Extracts as Indicator for Acid - Base Titration

ปิยะวัฒน์ ไกรสร¹ และ เฉลิมพร ทองพูน²

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

ตำบลพลาชุมพล อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

E-mail: ¹hongtea_pmz@hotmail.com, ²cthongpoon@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้นำสารสกัดจากดอกอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) โดยมีน้ำเป็นตัวทำละลายมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส สารสกัดดอกอัญชันมีการเปลี่ยนแปลงเฉดสีในสารละลายที่มีค่าพีเอชที่แตกต่างกัน และสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติได้ การเปลี่ยนแปลงเฉดสีขึ้นอยู่กับความเป็นกรด-เบสของสารที่นำมาทำปฏิกิริยากับสารสกัดดอกอัญชัน สามารถระบุได้ดังต่อไปนี้: เปลี่ยนเป็นสีแดงที่พีเอช 1 - 2, สีม่วง พีเอช 3-4, น้ำเงิน พีเอช 5-8, สีน้ำตาล พีเอช 9 -11 และสีเหลืองที่ พีเอช มากกว่า 12 ส่วนสำคัญของงานวิจัยนี้คือการนำสารสกัดจากดอกอัญชันมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ กรด-เบส ในกระบวนการไทเทรตกรด-เบส ประกอบไปด้วย การไทเทรตกรดแก่-เบสแก่ การไทเทรตกรดแก่-เบสอ่อน การไทเทรตกรดอ่อน-เบสแก่ และการไทเทรตกรดอ่อน-เบสอ่อน ผลที่ได้พบว่าสารสกัดดอกอัญชันสามารถประยุกต์ใช้กับการไทเทรตได้ทุกประเภท ในการวิจัยได้ทำการเปรียบเทียบกับการใช้อินดิเคเตอร์สังเคราะห์ ได้แก่ ฟีนอล์ฟทาเลอิน เมธิลเรดและโบโมไทมอลบลู พบว่า อินดิเคเตอร์ธรรมชาติที่สกัดจากดอกอัญชันมีคุณสมบัติที่ดีและสามารถนำมาใช้แทนที่กรด-เบส อินดิเคเตอร์สังเคราะห์สำหรับการไทเทรตกรด-เบสได้ นอกจากนี้ยังมีราคาถูก เตรียมสารสกัดได้ง่าย และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

ABSTRACT

This research was carried out to study the application of butterfly pea or *Clitoria ternatea* L. flower extracts as natural acid-base indicator. The properties of water extracts of butterfly pea flower were investigated. It was found that the extracted solution changes the colour at different pH and can be used successfully as indicator solution. This solution changes color depending on whether it comes in contact with an acid or base. The extracted solution from a butterfly pea can indicate as following: color change to red (pH 1- 2), purple (pH 3-4), blue (pH 5-8), and brown color (pH 9 -11) and the yellow color at pH above 12. The present work highlights the extracted solution of butterfly pea used as an acid-base indicator in different types of acid-base titration such as strong acid-strong base, strong acid-weak base, weak acid-strong base and weak acid-weak base. The results which were comparative to those of synthetic indicators such as phenolphthalein, methyl red and bromothymol blue. Therefore natural indicators from butterfly pea flower extracted were very useful, high potential for acid-base titration and could be replaced for synthetic indicators. Moreover it is non-expensive, simple preparation and friendly for environment.

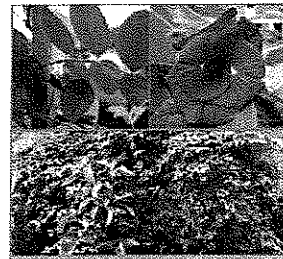
คำสำคัญ ดอกอัญชัน, อินดิเคเตอร์กรด-เบส, การไทเทรตกรด-เบส, สารสกัด

บทนำ

อินดิเคเตอร์กรด-เบส เป็นสารที่ใช้ทดสอบความเป็นกรด-เบสหรือค่า pH ของสารละลายชนิดต่าง ๆ โดยที่สีของสารจะเปลี่ยนไปเมื่อค่าความเป็นกรด - เบสเปลี่ยนไปด้วย ตัวอย่างเช่น สารละลายฟีนอล์ฟทาเลินเป็นอินดิเคเตอร์ที่ไม่มีสี เมื่อหยดสารละลายกรดลงไปสีของสารละลายจะคงเดิม แต่เมื่อหยดสารละลายเบสลงไปสีของสารละลายฟีนอล์ฟทาเลินจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูอมม่วง แต่ถ้าเป็นในสภาพเบสแก่จะเปลี่ยนเป็นสีแดง ในปัจจุบันสารอินดิเคเตอร์ส่วนใหญ่ที่ใช้ในการทดสอบหรือใช้ในการไทเทรตกรด - เบส เป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้น ซึ่งในประเทศไทยการสังเคราะห์สารอินดิเคเตอร์เพื่อนำมาใช้เองยังทำได้ยาก ขาดวัตถุดิบและใช้อุปกรณ์หลายอย่าง ตลอดจนราคาต้นทุนในการผลิตค่อนข้างสูง จึงต้องสั่งซื้อและนำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้นเพื่อการแก้ปัญหาจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาเพื่อหาแนวทางการแก้ไข โดยใช้อินดิเคเตอร์จากธรรมชาติมากขึ้น เพราะในประเทศไทยมีพืชธรรมชาติหลายชนิดที่ส่วนต่างๆของพืช เช่น ดอก ใบ ลำต้น และเมล็ด ที่มีสีและสามารถที่จะนำมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ได้ มีรายงานการวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากพืชธรรมชาติ เพื่อนำมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์สำหรับไทเทรตกรด-เบส เช่น ดอกชัลโว (*Nerium oleander* L.), ดอกทองอุไร (*Tecoma stans* Juss.), ดอกกรัก (*Calotropis gigantea* R.Br.) ดอกพุดกุ่ม (*Albizia lebbek* Benth.) และดอกกุ่ม (*Cassia fistula* Linn.) โดยนำมาสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 90 โดยปริมาตร ซึ่งสารสกัดที่ได้มีคุณสมบัติเป็นอินดิเคเตอร์ที่ใช้ในการไทเทรตกรด-เบสได้เป็นอย่างดี [1]

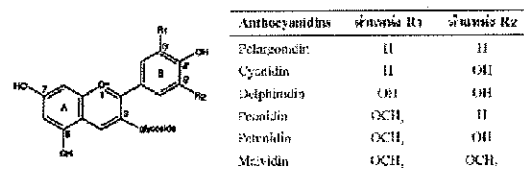
ดอกอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) เป็นพืชท้องถิ่นพบได้ทั่วไปในทุกภูมิภาคของประเทศไทย มีดอกสีน้ำเงิน-ม่วง ลักษณะ ใบ ดอก และลำต้นอัญชันแสดงในรูปที่ 1 สารสกัดดอกอัญชันสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์สำหรับไทเทรตกรด-เบสได้ เพราะภายในดอกจะมีสารแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) จัดเป็นสารรงควัตถุ (Pigment) ที่ให้สีแดง สีม่วง และสีน้ำเงิน

สามารถละลายน้ำได้ดี และยังมีคุณสมบัติความเป็น อินดิเคเตอร์ (Indicator) เช่นเดียวกับ ลิตมัส [2]



รูปที่ 1 ใบ ดอก และลำต้นอัญชัน

สารแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) มีโครงสร้างโมเลกุลดังรูปที่ 2 ในสภาพที่สารละลายตัวกลางเป็นกรดจะมีค่า pH ต่ำกว่า 3 จะให้สีแดง ส่วนในสภาพที่ค่อนข้างเป็นกลางหรือมีค่า pH ประมาณ 7-8 แอนโทไซยานินจะมีสีม่วง และเมื่อสภาพเป็นเบสหรือมีค่า pH ≥ 11 (เป็นเบสแก่) แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน [3]



รูปที่ 2 โครงสร้างและชนิดของแอนโทไซยานิน [3]

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาถึงการนำสารที่สกัดจากดอกอัญชันที่เป็นพืชที่มีอยู่ในท้องถิ่น ซึ่งภายในดอกจะมีสารแอนโทไซยานินที่มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนเฉดสีเมื่อค่าความเป็นกรด - เบสของสารละลายเปลี่ยนแปลงไป มาประยุกต์และปรับใช้เป็นอินดิเคเตอร์กรด - เบส สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดโดยใช้การไทเทรต กรด - เบส ทำการเปรียบเทียบกับอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ ได้แก่ ฟีนอล์ฟทาเลิน เมธิลเรด และโบโมไทมอลบลู ซึ่งอินดิเคเตอร์ธรรมชาติที่สกัดจากดอกอัญชัน นอกจากจะมีคุณสมบัติที่เหมาะสม สามารถใช้แทนอินดิเคเตอร์สังเคราะห์สำหรับการไทเทรตกรด-เบสได้แล้ว สกัดจากดอกอัญชันยังมีต้นทุนในการผลิตต่ำ และเตรียมสารสกัดได้โดยง่าย เหมาะกับการใช้ในการเรียนการสอน

เรื่องการไทเทรตกรด-เบสระดับมัธยมศึกษา หรือ
ปฏิบัติการเคมีพื้นฐานในระดับมหาวิทยาลัย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสกัดสารจากดอกอัญชัน และนำมาใช้เป็น
อินดิเคเตอร์กรด-เบส
2. เพื่อศึกษาสมบัติของอินดิเคเตอร์กรด-เบส จาก
สารสกัดดอกอัญชัน

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์: เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
(UV-Visible Spectrophotometer) Shimadzu รุ่น UV-
1601, เครื่องวัดพีเอช (pH meter) รุ่น Seven Easy

สารเคมี: กรดไฮโดรคลอริก (HCl), กรดอะซิติก
(CH₃COOH), โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
แอมโมเนียไฮดรอกไซด์ (NH₄OH), ฟีนอล์ฟทาเลิน
โบโมไทมอลบลู และเมทิลเรด

1. การเตรียมสารสกัดจากดอกอัญชัน

การสกัดสารละลายจากดอกอัญชัน ใช้วิธีการสกัด
โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย นำดอกอัญชันที่ผ่านการ
อบแห้งแล้วมาบดด้วยเครื่องบดให้เป็นผงละเอียด ซึ่งผง
ดอกอัญชัน 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร แช่ทิ้ง
ไว้นาน 5 นาที กรองสารสกัดที่ได้จะได้สารสกัดจากดอก
อัญชัน สังเกตลักษณะทางกายภาพของสารสกัดที่ได้และ
คุณสมบัติในการเปลี่ยนสีในสภาวะกรด-เบส

2. การทดสอบความเป็นอินดิเคเตอร์กรด – เบส ของสารสกัดดอกอัญชัน

ในการศึกษาคุณสมบัติความเป็นอินดิเคเตอร์กรด –
เบสของสารสกัดดอกอัญชัน ใช้สารละลายกรด และ
สารละลายเบสเป็นตัวปรับค่า pH ของสารสกัดดอก
อัญชัน ทำการปรับค่า pH ตั้งแต่ 1-14 และใช้ pH meter
เป็นตัวตรวจวัด เริ่มจากการตรวจสอบสารสกัดดอกอัญชัน
ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100
มิลลิลิตร แล้วทำการปรับค่า pH ของสารสกัดดอกอัญชัน
ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 โมลาร์
ให้ได้ค่า pH เท่ากับ 1 ทำการทดลองซ้ำแต่เปลี่ยน

สารละลายที่ใช้ในการปรับค่า pH เป็นสารละลายกรด
ไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ให้ได้ค่า pH 2, 3
และ pH 4 ตามลำดับ ปรับค่า pH ของสารสกัดดอก
อัญชันด้วยสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 โมลาร์
ให้ได้ค่า pH 5, 6, 7 และ pH 8 ตามลำดับ ปรับค่า pH
ของสารสกัดดอกอัญชันด้วยสารละลายแอมโมเนียไฮดร
ออกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ให้ได้ค่า pH 9, 10
และ pH 11 ตามลำดับ และปรับค่า pH ของสารสกัดดอก
อัญชันด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น
0.5 โมลาร์ ให้ได้ค่า pH 12, 13 และ pH 14 ตามลำดับ
แล้วทำการเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพโดยสังเกต
การเปลี่ยนแปลงเฉดสีของสารสกัดดอกอัญชันที่ได้จาก
การปรับค่า pH

3. การศึกษาเวลาที่ใช้สกัด

เพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารจาก
ดอกอัญชัน ใช้ผงดอกอัญชัน 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 100
มิลลิลิตร สกัดทิ้งไว้นาน 10 นาที กรองสารสกัดที่ได้ ทำ
การทดลองซ้ำแต่เปลี่ยนระยะเวลาที่ใช้สกัดเป็น 15, 30,
45 และ 60 นาที ตามลำดับ กรองสารสกัดที่ได้ แล้ว
สังเกตลักษณะทางกายภาพของสารสกัด และวัดค่าการ
ดูดกลืนแสงของสารละลายที่สกัดได้โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิ
เบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน โดยวิธี Estimation of total anthocyanin method (Rangana, 1997) [4]

ซึ่งผงดอกอัญชัน 1 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่เติม
สารละลาย Ethanoic HCl (เป็นสารละลายผสมระหว่าง
95% ethanol: 1.5 M HCl อัตราส่วน 85: 15 v/v) ปริมาตร
25 มิลลิลิตร ลงไปในขวดรูปชมพู่ที่มีดอกอัญชันแห้ง
บดละเอียดอยู่ แล้วเก็บทิ้งไว้ 1 คืน ที่อุณหภูมิ 4 องศา
เซลเซียส นำดอกอัญชันที่แช่ด้วยสารละลาย Ethanoic
HCl มากรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นสารละลายใสมาปรับ
ปริมาตรด้วยสารละลาย Ethanoic HCl ให้ได้ปริมาตร
100 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง
(Absorbance, Abs) ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร โดย
ใช้สารละลาย Ethanoic HCl เป็น Blank นำค่าการ

ดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปแทนค่าในสูตรการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน ในหน่วยเป็น มิลลิกรัม/น้ำหนักดอกอัญชัน 100 กรัม สูตรในการคำนวณหาปริมาณสารแอนโทไซยานิน ดังสมการที่ (1) และ (2)

Total Absorbance =

$$\text{Abs at 535 nm} \times \frac{\text{Final volume}}{\text{Weight (g)}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Total anthocyanin content} = \frac{\text{Total Absorbance}}{98.2} \quad (2)$$

5. การไทเทรต กรด – เบส โดยใช้สารสกัดดอกอัญชันเป็นอินดิเคเตอร์

กระบวนการไทเทรต กรด – เบส เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดดอกอัญชันที่ใช้เป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์เปรียบเทียบกับอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ ได้แก่ ฟีนอล์ฟทาลีน โบโมไทมอลบูล และเมทิลเรด มีขั้นตอน ดังต่อไปนี้

5.1 การไทเทรตกรดแก่-เบสแก่ ปิเปตสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใช้เป็นไทเทรนต์ และใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร เป็นไทเทรนต์ ใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นเปลี่ยนอินดิเคเตอร์เป็นสารสกัดจากดอกอัญชัน ทำการทดลองเช่นเดียวกัน ที่ความเข้มข้นของไทเทรนต์และไทเทรนต์เป็น 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร ตามลำดับ

5.2 การไทเทรตกรดอ่อน – เบสแก่ ปิเปตสารละลายกรดกรดอะซิติกเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใช้เป็นไทเทรนต์ และใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร เป็นไทเทรนต์ ใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นเปลี่ยนอินดิเคเตอร์เป็นสารสกัดจากดอกอัญชัน ทำการทดลองเช่นเดียวกัน ที่ความเข้มข้นของไทเทรนต์และไทเทรนต์เป็น 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร ตามลำดับ

5.3 การไทเทรตกรดอ่อน-เบสอ่อน

ปิเปตสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นไทเทรนต์และใช้สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร เป็นไทเทรนต์ ใช้บอมไทมอลบูลเป็นอินดิเคเตอร์ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นเปลี่ยนอินดิเคเตอร์เป็นสารสกัดจากดอกอัญชัน ทำการทดลองเช่นเดียวกัน ที่ระดับความเข้มข้นของไทเทรนต์และไทเทรนต์เป็น 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร ตามลำดับ

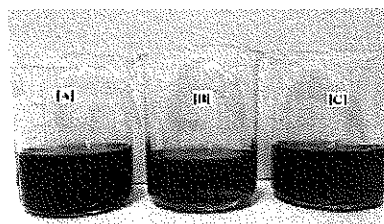
5.4 การไทเทรตกรดแก่-เบสอ่อน

ใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 25 เป็นไทเทรนต์และใช้สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร เป็นไทเทรนต์ ใช้อินดิเคเตอร์เป็นเมทิลเรด ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นเปลี่ยนอินดิเคเตอร์เป็นสารสกัดจากดอกอัญชัน ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับ ที่ความเข้มข้นของไทเทรนต์และไทเทรนต์เป็น 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร ตามลำดับ

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

1. สารสกัดจากดอกอัญชัน

ทำการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ในการวิจัยได้นำดอกอัญชันที่ผ่านการอบแห้งแล้วมาบดด้วยเครื่องบดให้เป็นผงละเอียด ชั่งผงดอกอัญชัน 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้ 5 นาที กรองสารสกัดจะได้สารสกัดจากดอกอัญชัน ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดที่ได้มีสีน้ำเงินอมม่วง(รูปที่ 3) โดยที่ [A] เป็นสารสกัดดอกอัญชันในสภาพกรด มีค่า pH 2-3, [B] เป็นสารสกัดดอกอัญชันในสภาพเป็นกลางมีค่า pH 6-7 และ [C] เป็นสารสกัดดอกอัญชันในสภาพเบส มีค่า pH > 8



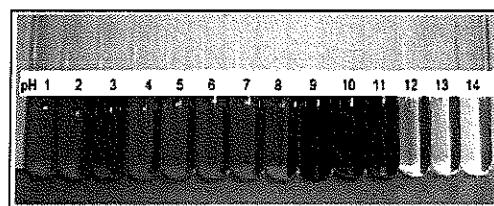
รูปที่ 3 ลักษณะสีของสารสกัดดอกอัญชันในสภาพสารละลายกรด-เบส

2. ความเป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบสของสารสกัดดอกอัญชัน

ผลการทดสอบความเป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส ของสารสกัดดอกอัญชัน ทำการปรับค่า pH ของสารสกัดจากดอกอัญชัน ในช่วง pH 1-14 และใช้ pH meter เป็นตัวตรวจวัด ในการวิจัยได้ปรับค่า pH ของสารสกัดโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก (1 M) กรดอะซิติก (0.5 M) แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (0.5 M) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (1 M) แล้วทำการเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงเฉดสีของสารสกัดดอกอัญชันที่ได้จากการปรับค่า pH แล้ว ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 4

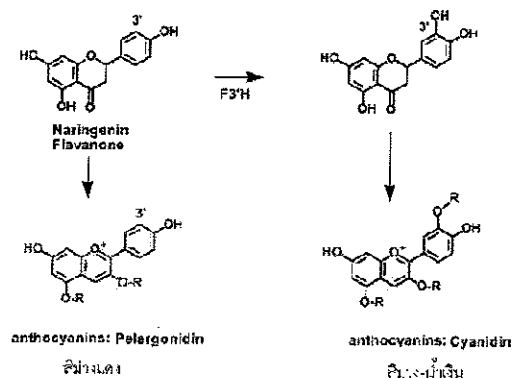
ตารางที่ 1 แสดงเฉดสีของสารสกัดดอกอัญชันในช่วง pH 1 ถึง pH 14

สารสกัดดอกอัญชัน	สารละลายที่ใช้ปรับค่าพีเอช (pH)	pH	สีของสารละลาย
	กรดไฮโดรคลอริก (1 M)	1	แดง
		2	ชมพู
		3	ม่วง
		4	น้ำเงินอมม่วง
	กรดอะซิติก (0.5 M)	5	น้ำเงินอ่อน
		6	น้ำเงิน
		7	น้ำเงิน
		8	น้ำเงินเข้ม
	แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (0.5 M)	9	น้ำตาลเข้ม
		10	น้ำตาล
		11	น้ำตาลอ่อน
	โซเดียมไฮดรอกไซด์ (1 M)	12	เหลืองอ่อน
		13	เหลืองเข้ม
		14	ขาวใส



รูปที่ 4 เฉดสีของสารสกัดดอกอัญชัน ในช่วง pH 1 ถึง pH 14

การเปลี่ยนแปลงเฉดสีของแอนโทไซยานินที่มีในสารสกัดดอกอัญชันเกิดจากการแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซี (OH) และหมู่เมทอกซี (OCH₃) ของ Flavylium ring ทำให้แอนโทไซยานินเกิดสีที่แตกต่างกัน คือ เมื่อมีการเพิ่มจำนวนของหมู่ไฮดรอกซีจะทำให้เกิดเฉดสีฟ้า (Bluish shade) ส่วนการเพิ่มจำนวนของหมู่เมทอกซีจะทำให้เกิดสีแดง (Redness) รูปที่ 5 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงสีของสารแอนโทไซยานินในสภาพกรด-เบส



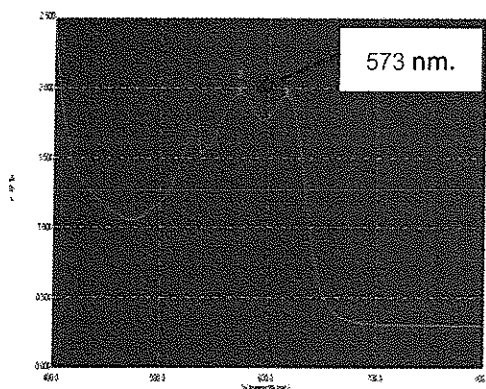
รูปที่ 5 การเปลี่ยนแปลงสีของสารแอนโทไซยานินในสภาพกรด-เบส

นอกจากนี้ Mazza, GJ. (2007) [5] ได้รายงานว่าการเพิ่มจำนวนของหมู่ไฮดรอกซี จะทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) เพิ่มขึ้น และเนื่องจากการแทนที่ของกรดและด่างเกิดขึ้นได้ในหลายตำแหน่ง จึงทำให้จำนวนของแอนโทไซยานินมีมากกว่าแอนโทไซยานิน 15-20 เท่า โมเลกุลของน้ำตาลที่ต่อกับแอนโทไซยานิน ได้แก่ กลูโคส (glucose) กาแลคโตส (galactose) แรรมโนส (rhamnose) อะราบินโนส

(arabinose) ไคแซ็กคาไรด์และไตรแซ็กคาไรด์ โดยแอนโทไซยานินที่พบมากที่สุดคือ 3-monoside, 3-biosides, 3,5-diglycosides และ 3,7- diglycosides [6]

3. เวลาที่ใช้สกัด

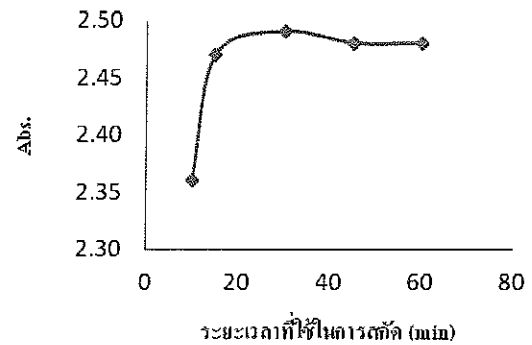
ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมที่ใช้สกัดสารจากดอกอัญชัน ทำการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ได้ โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ในช่วง UV-VIS (400-800 nm) พบว่าค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารสกัดที่ความยาวคลื่น 573 nm ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 2 ซึ่งระยะเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดสารจากดอกอัญชัน คือ 15 นาที ส่วนนาทีที่ 30, 45 และ 60 นาที มีค่าการดูดกลืนแสงใกล้เคียงกัน และไม่ต่างจากค่าที่ได้จากการสกัดที่เวลา 15 นาที



รูปที่ 6 Spectrum การดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกอัญชันที่ความยาวคลื่น 400 – 800 nm

ตารางที่ 2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกอัญชันเมื่อใช้ระยะเวลาในการสกัดต่างกัน

ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (min)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 573 นาโนเมตร
10	2.36
15	2.47
30	2.49
45	2.48
60	2.48



รูปที่ 6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกอัญชันเมื่อใช้ระยะเวลาในการสกัดที่แตกต่างกัน

4. ปริมาณสารแอนโทไซยานิน ในสารสกัดดอกอัญชัน

การคำนวณปริมาณสารแอนโทไซยานิน ใช้วิธีการคำนวณแบบ Estimation of total anthocyanin method (Rangana, 1997) [4] ปริมาณของสารแอนโทไซยานินที่มีอยู่ในตัวอย่างของดอกอัญชันที่นำมาสกัดเป็นสารอินดิเคเตอร์ สำหรับใช้ในการไทเทรตกรด-เบส มีปริมาณเท่ากับ 223 มิลลิกรัมต่อปริมาณของดอกอัญชันที่นำมาทดสอบ 100 กรัม

ตารางที่ 3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกอัญชันวัดที่ความยาวคลื่น 535 nm ทำการวัดซ้ำ 6 ครั้ง

ครั้งที่	Abs at 535 nm.	ปริมาณสารแอนโทไซยานิน (mg / 100 g)
1	2.21	223
2	2.23	225
3	2.18	212
4	2.22	224
5	2.21	223
6	2.21	223
ค่าเฉลี่ย ± SD.	2.21 ± 0.02	222 ± 4

ตัวอย่างการคำนวณปริมาณสารแอนโทไซยานิน

Total Absorbance =

$$\text{Abs at 535 nm} \times \frac{\text{Final volume}}{\text{Weight (g)}} \times 100$$

$$\text{Total anthocyanin content} = \frac{\text{Total Absorbance}}{98.2}$$

$$\text{Total Absorbance} = 2.21 \times \frac{100 \text{ mL}}{1.01 \text{ g}} \times 100$$

$$= 21881.21$$

$$\text{Total anthocyanin content} = \frac{21881.21}{98.2}$$

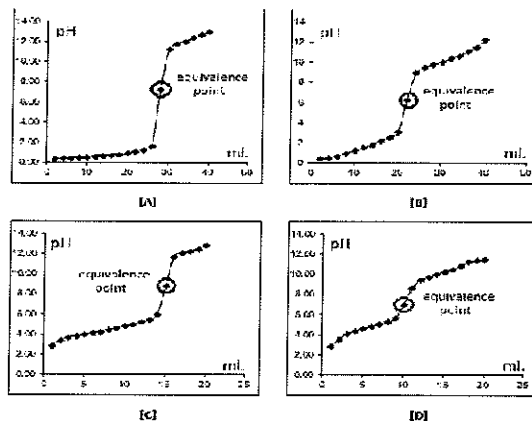
$$= 223 \text{ mg / 100 g}$$

ดังนั้น ปริมาณสารแอนโทไซยานินมีค่าเท่ากับ 223 มิลลิกรัมต่อปริมาณของดอกอัญชันบ 100 กรัม

5. การไทเทรต กรด - เบส โดยใช้สารสกัดดอกอัญชันเป็นอินดิเคเตอร์

สารสกัดดอกอัญชันที่นำมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรด-เบส นำมาเปรียบเทียบกับอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ ได้แก่ ฟีนอล์ฟทาลีน โบโมไทมอลและเมทิลเรด ทำไทเทรตทั้ง 4 แบบ (ตารางที่ 4) ผลการเปรียบเทียบปริมาณของสารละลายเบสที่ใช้เป็นไทเทรนต์ เมื่อมีการใช้สารละลายอินดิเคเตอร์ที่

แตกต่างกัน ให้ผลที่ไม่แตกต่างกันมากนัก และ ค่าพีเอชของสารละลายที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งค่าพีเอชนี้ ในการไทเทรตจะเป็นค่าที่แสดงจุดยุติ (equivalence point) ของสารละลายโดยใช้เครื่องพีเอช (pH meter) ในการตรวจวัด และสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายได้อย่างชัดเจนเช่นเดียวกับการใช้อินดิเคเตอร์มาตรฐาน



รูปที่ 7 กราฟการไทเทรตที่ได้จากการไทเทรตกรด-เบสทั้ง 4 ชนิด โดยใช้สารสกัดดอกอัญชันเป็นอินดิเคเตอร์

[A] = strong acid - strong base, [B] = strong acid - weak base

[C] = weak acid - strong base, [D] = weak acid - weak base

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบปริมาณของสารละลายที่ใช้ การเปลี่ยนแปลงจุดสี และค่าพีเอชของสารละลายเบส ที่ใช้ในการไทเทรตกรด-เบส เมื่อมีการใช้อินดิเคเตอร์ต่างชนิดกัน

Acid-Base titrations	Indicator solution	Used alkaline solution volume (mL)	Color changes	pH
strong acid - strong base	bromothymol blue	30.50	Yellow - Blue	7.52
(HCl and NaOH)	1% w/v butterfly pea solution	31.50	Transparent -Blue	7.71
strong acid - weak base	methyl red	20.50	Red - Yellow	6.49
(HCl and NH ₄ OH)	1% w/v butterfly pea solution	22.50	Transparent -Blue	6.83
weak acid - strong base	phenolphthalein	13.50	Transparent -Pink	8.31
(CH ₃ COOH and NaOH)	1% w/v butterfly pea solution	14.50	Transparent -Blue	8.75
weak acid - weak base	bromothymol blue	10.50	Yellow - Blue	7.26
(CH ₃ COOH and NH ₄ OH)	1% w/v butterfly pea solution	10.00	Transparent -Blue	7.02

หมายเหตุ ความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ในการไทเทรต [HCl] = 1.0 M, [CH₃COOH] = 1.0 M, [NaOH] = 0.5 M, [NH₄OH] = 0.5 M

สรุป

การประยุกต์ใช้สารสกัดดอกอัญชันเป็นอินดิเคเตอร์สำหรับการไทเทรตกรด-เบส เตรียมสารสกัดดอกอัญชัน โดยจากการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการสกัดสารจากดอกอัญชันหนัก 1 กรัม จะได้สารสกัดดอกอัญชันที่มีลักษณะเป็นสีม่วงแกมน้ำเงิน เมื่อนำสารสกัดดอกอัญชันที่ได้ไปทดสอบความเป็นอินดิเคเตอร์กรด – เบส โดยทำการปรับค่าพีเอช ตั้งแต่ 1-14 จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเฉดสีของสารได้อย่างชัดเจน โดยใช้ระยะเวลาในการสกัด 15 นาที เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 573 นาโนเมตร ได้ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) เท่ากับ 2.47 สารสกัดดอกอัญชันที่สกัดได้มีปริมาณของสารแอนโทไซยานิน เท่ากับ 223 มิลลิกรัมต่อปริมาณของดอกอัญชัน 100 กรัม และเมื่อนำสารสกัดดอกอัญชันมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรด-เบสทั้ง 4 แบบ ได้แก่ การไทเทรตกรดแก่-เบสแก่, กรดแก่-เบสอ่อน, กรดอ่อน-เบสอ่อน และกรดอ่อน-เบสแก่ โดยเปรียบเทียบกับ อินดิเคเตอร์สังเคราะห์ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ฟีนอล์ฟทาลีน โบโมไทมอลบูล และเมทิลเรด ผลที่ได้มีความใกล้เคียงกัน จากผลการวิจัยสรุปได้ว่าสามารถ นำสารสกัดดอกอัญชันมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ กรด-เบสได้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

- [1] Singh sudarshan , Bothara S.B. , singh Sangeeta , Patel rodhan and Mahobia naveen. (2010). Preliminary pharmaceutical characterization of flowers as natural indicator: acid – base indicator. *The Pharma Research*, 4, 83-90.
- [2] J. B. Morris. (2009). Characterization of regenerated butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) accessions for morphological, phenology, reproductive and potential nutraceutical, pharmaceutical trait utilization. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56, 421-427.

- [3] อรุษา เชาวณลิขิต. (2554). การสกัดและวิธีการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี), 3(6).
- [4] Ranganna, S. (1977). **Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Products**. Tata McGraw-Hill Publishing Co : Ltd. New Delhi.
- [5] Mazza, GJ. (2007). Anthocyanins and heart health. *Ann Ist Super Sanita*, 43(4), 369-374.
- [6] Sikorski, ZE. (2007). **Chemical and Functional Properties of Food Components**. 2 nd ed. Boca Raton, Fla : CRC Press.
- [7] แม้น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. (2539). หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. กรุงเทพฯ : ชวนพิมพ์
- [8] สุภาพ รมณีย์พิกุล. (2542). เคมีวิเคราะห์ (Analytical chemistry). พิมพ์ครั้งที่ 2. พิษณุโลก : โปรแกรมวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม
- [9] อรุษา เชาวณลิขิต และคณะ. (2552). ผลกระทบของ pH และอุณหภูมิ ต่อสีและความคงตัวของสารสกัดจากกระเจี๊ยบและอัญชัน. *วารสารวิจัย. กษ*, 40(3), 5-8.