

การใช้สารสกัดจากดอกอัญชันเป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรด-เบส

เฉลิมพร ทองพูน* และปิยะวัฒน์ ไกรสร

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

*corresponding author e-mail: cthongpoon@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้นำสารสกัดจากดอกอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) โดยมีน้ำเป็นตัวทำละลายมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส สารสกัดดอกอัญชันมีการเปลี่ยนแปลงเฉดสีในสารละลายที่มีค่าพีเอชที่ต่างกัน และสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติได้ การเปลี่ยนแปลงเฉดสีขึ้นอยู่กับความเป็นกรด-เบสของสารที่นำมาทำปฏิกิริยากับสารสกัดดอกอัญชัน สามารถระบุได้ดังต่อไปนี้: เปลี่ยนเป็นสีแดงที่พีเอช 1-2, สีม่วง พีเอช 3-4, น้ำเงิน พีเอช 5-8, สีน้ำตาล พีเอช 9-11 และสีเหลืองที่ พีเอช มากกว่า 12 งานวิจัยนี้ ได้นำสารสกัดจากดอกอัญชันมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ กรด-เบส ในกระบวนการไทเทรตกรด-เบส ประกอบไปด้วย การไทเทรตกรดแก่-เบสแก่ การไทเทรตกรดแก่-เบสอ่อน การไทเทรตกรดอ่อน-เบสแก่ และการไทเทรตกรดอ่อน-เบสอ่อน ผลที่ได้พบว่าสารสกัดดอกอัญชันสามารถประยุกต์ใช้กับการไทเทรตได้ทุกประเภท ในการวิจัยได้ทำการเปรียบเทียบกับการใช้อินดิเคเตอร์สังเคราะห์ ได้แก่ ฟีนอล์ฟทาไลน์ เมธิลเรด และโบโมไทมอลบลู พบว่าอินดิเคเตอร์ธรรมชาติที่สกัดจากดอกอัญชันมีคุณสมบัติที่ดีและสามารถนำมาใช้แทนที่กรด-เบสอินดิเคเตอร์สังเคราะห์สำหรับการไทเทรตกรด-เบสได้ นอกจากนี้ยังมีราคาถูก เตรียมสารสกัดได้ง่ายและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

คำสำคัญ: สารสกัดจากดอกอัญชัน อินดิเคเตอร์ การไทเทรตกรด-เบส จุดสมมูล

ACID-BASE TITRATION BY USING BUTTERFLY PEA EXTRACT AS INDICATOR

Chalermpon Thongpoon* and Piyawat Kraison

Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University

*corresponding author e-mail: cthongpoon@gmail.com

Abstract

This research was carried out to study the application of butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) flower extracted as natural acid-base indicator. The properties of water extracted 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 a compound indicator. An indicator changes color depending on whether it comes in contact with an acid or base. The extracted solution from a butterfly pea can indicate as follows: 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 inexpensive, simple preparation and friendly for environment.

Keywords: butterfly pea flower extract, indicator, acid-base titration, equivalent point

บทนำ

การไทเทรตกรด-เบส เป็นกระบวนการวิเคราะห์ทางเคมี ที่เกี่ยวข้องกับการวัดปริมาตร ใช้เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายในสภาพกรด-เบส หรือใช้หาปริมาณกรดหรือปริมาณเบส โดยอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายตัวอย่างกรด-เบส ที่ทำปฏิกิริยากันพอดีกับสารละลายมาตรฐานกรดหรือเบสที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน แล้วใช้อินดิเคเตอร์เป็นสารบอกจุดยุติของการไทเทรต โดยสังเกตจุดยุติจากการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายตัวอย่าง ซึ่งเป็นผลมาจากค่าพีเอช (pH) ที่เปลี่ยนแปลงไปในขณะทำการไทเทรต การเลือกใช้อินดิเคเตอร์ที่เหมาะสมจะสามารถบอกจุดยุติที่ใกล้เคียงกับจุดสมมูลของปฏิกิริยาได้ ทำให้คำนวณหาความเข้มข้นหรือปริมาณกรดหรือเบส ของสารละลายตัวอย่างได้

อินดิเคเตอร์กรด-เบส เป็นสารที่ใช้ทดสอบความเป็นกรด-เบสหรือค่าพีเอช ของสารละลายชนิดต่างๆ โดยที่สีของสารจะเปลี่ยนไปเมื่อค่าความเป็นกรด-เบสเปลี่ยนไป เช่น สารละลายฟีนอล์ฟทาเลอิน เป็นอินดิเคเตอร์ที่ไม่มีสี เมื่อหยดสารละลายกรดลงไปสีของสารละลายจะคงเดิม แต่เมื่อหยดสารละลายเบสลงไปสีของสารละลายฟีนอล์ฟทาเลอินจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูอมม่วง แต่ถ้าเป็นในสภาพเบสแก่จะเปลี่ยนเป็นสีแดง ปัจจุบันสารอินดิเคเตอร์ส่วนใหญ่ที่ใช้ในการทดสอบหรือใช้ในการไทเทรตกรด-เบส เป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้นแทบทั้งสิ้น ซึ่งในประเทศไทยการสังเคราะห์สารอินดิเคเตอร์เพื่อนำมาใช้เองยังทำได้ยาก เนื่องจากขาดแคลนวัตถุดิบและอุปกรณ์หลายอย่าง ตลอดจนราคาต้นทุนในการผลิตค่อนข้างสูง จึงต้องสั่งซื้อและนำเข้าจากต่างประเทศเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาเพื่อหาแนวทางการแก้ไขปัญหาดังกล่าว โดยการประยุกต์ใช้อินดิเคเตอร์จากธรรมชาติให้มากขึ้น เนื่องจากในประเทศไทยมีพืชธรรมชาติหลายชนิดที่ส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ดอก ใบ ลำต้น และเมล็ด มีสีสันทันที่แตกต่างกันไปและพืชที่ให้สีเหล่านี้ สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบสจากธรรมชาติได้

มีรายงานการวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากสารสกัดจากพืชธรรมชาติ เพื่อนำมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์สำหรับไทเทรตกรด-เบส เช่น การใช้สารสกัดจากดอกยี่โถ (*Nerium oleander* L.), ดอกทองอุไร (*Tecoma stans* Juss.) ดอกกรัก (*Calotropis gigantea* R. Br.) ดอกพลูเก้ (*Albizia lebeck* Benth.) และดอกคูณ (*Cassia fistula* L.) โดยนำส่วนของดอกมาสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 90 โดยปริมาตร ซึ่งสารสกัดที่ได้มีคุณสมบัติเป็นอินดิเคเตอร์ที่ใช้ในการไทเทรตกรด-เบสได้เป็นอย่างดี (Singh et al., 2010) การศึกษาอินดิเคเตอร์กรด-เบสจากกลีบดอกกุหลาบ เพ็ญฟ้า พุทธรักษา

และกะหล่ำปลีม่วง โดยใช้ น้ำและเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดที่ได้มีศักยภาพในการใช้เป็นอินดิเคเตอร์ กรด-เบส สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณในการไทเทรตกรด-เบสได้ (ชนิดา และอนุลักษณ์, 2552) การสกัดแอนโทไซยานิน จากดอกไม้เพื่อใช้เป็นสารอินดิเคเตอร์ (กัญทิมา, 2551) และการศึกษาสมบัติความเป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติของแก่นฝางและดอกหมามุ่ยสำหรับการไทเทรตกรด-เบส (วิแทน, 2556) เป็นต้น

อัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) เป็นพืชท้องถิ่นพบได้ทั่วไปในทุกภูมิภาคของประเทศไทย มีดอกสีน้ำเงิน-ม่วง ลักษณะ ใบ ดอก และลำต้นอัญชันแสดงใน ภาพที่ 1 สารสกัดดอกอัญชันสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์สำหรับไทเทรตกรด-เบสได้ เพราะภายในดอกจะมีสารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) จัดเป็นสารรงควัตถุ (pigment) ที่ให้สีแดง สีม่วง และสีน้ำเงิน สามารถละลายน้ำได้ดี และยังมีคุณสมบัติความเป็น อินดิเคเตอร์ (indicator) เช่นเดียวกับ ลิทมัส (Morris, 2009)

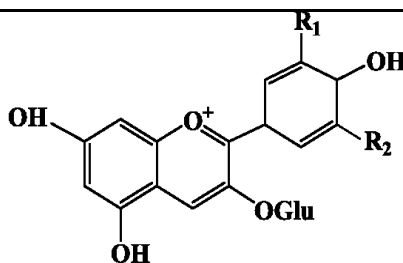


ภาพที่ 1 ใบ ดอก และลำต้นอัญชัน

สารแอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุจัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นสารให้สีตามธรรมชาติ โดยสีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่าง แอนโทไซยานิน มีโครงสร้างเป็นแบบ C6-C3-C6 ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ของ 2-ฟีนิลเบนโซไพริเลียม (2-phenylbenzopyrylium) หรือ เพลวิลเลียม แคทไอออน (flavyium cation) มีด้วยกันหลายชนิดแต่มีอยู่ 6 ชนิดเท่านั้นที่พบบ่อย ได้แก่ เพลาร์โกนิน (pelargonidin), ไซยานิดิน (cyaniding), เดลฟินิดิน (delphinidin), พีโอนิดิน (peonidin), พีทูนิดิน (petunidin) และ มัลวิดิน (malvidin) รายละเอียดดังตารางที่ 1 ในสารละลายตัวกลาง สารแอนโทไซยานินจะทำหน้าที่เป็นอินดิเคเตอร์ สามารถใช้วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH indicator) ได้ กล่าวคือ ให้สีแดงที่พีเอชต่ำ ให้สีน้ำเงินที่สภาวะเป็นกลาง และไม่มีสีที่พีเอชสูง สารแอนโทไซยานินพบได้ในพืชทั้งในดอกและในผลของพืชที่มีสีแดง น้ำเงิน หรือม่วง เป็นสารที่ละลายในน้ำได้ดี (Jackman & Smith, 1992)

ตารางที่ 1 โครงสร้างและชนิดของแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)

Anthocyanidins	ตำแหน่ง R ₁	ตำแหน่ง R ₂
Pelargonidin	-H	-H
Cyanidin	-H	-OH
Delphinidin	-OH	-OH
Peonidin	-OCH ₃	-H
Petunidin	-OCH ₃	-OH
Malvidin	-OCH ₃	-OCH ₃



งานวิจัยนี้ได้นำสารสกัดจากดอกอัญชันที่เป็นพืชที่มีอยู่ในท้องถิ่น ซึ่งภายในดอกอัญชันมีสารแอนโทไซยานินที่มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนเฉดสีเมื่อค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายเปลี่ยนแปลงไป นำมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ กรด-เบส สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดโดยใช้การไทเทรตกรด-เบส ทำการเปรียบเทียบกับอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ ได้แก่ ฟีนอล์ฟทาเลิน เมธิลเรด และโบโมไท-มอลบลู ซึ่งอินดิเคเตอร์ธรรมชาติที่สกัดจากดอกอัญชัน นอกจากจะมีคุณสมบัติที่เหมาะสมสามารถใช้แทนอินดิเคเตอร์สังเคราะห์สำหรับการไทเทรตกรด-เบสได้แล้ว สารสกัดจากดอกอัญชันยังมีต้นทุนในการผลิตต่ำ และทำการเตรียมสารสกัดได้โดยง่าย เหมาะกับการใช้ในการเรียนการสอนเรื่องการไทเทรตกรด-เบสระดับมัธยมศึกษาหรือปฏิบัติการเคมีพื้นฐานในระดับมหาวิทยาลัยได้

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์

เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer, Shimadzu รุ่น UV-1601) เครื่องวัดพีเอช (pH meter), รุ่น seven easy, ชุดอุปกรณ์เครื่องแก้วสำหรับการไทเทรตกรด-เบส

สารเคมี

กรดไฮโดรคลอริก (1.0 M HCl), กรดอะซิติก (1.0 M CH₃COOH), โซเดียมไฮดรอกไซด์ (0.5 M NaOH), แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (0.5 M NH₄OH), ฟีนอล์ฟทาเลิน โบโมไทมอลบลู และเมธิลเรด

1. การเตรียมสารสกัดจากดอกอัญชัน

สกัดสารจากดอกอัญชัน ใช้วิธีการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย นำดอกอัญชันที่ผ่านการอบแห้งแล้วมาบดด้วยเครื่องบดให้เป็นผงละเอียด ชั่งผงดอกอัญชัน 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้ 5 นาที กรองสารสกัดที่ได้ จะได้สารสกัดจากดอกอัญชันนำไปใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรด-เบส สังเกตลักษณะทางกายภาพของสารสกัดที่ได้และศึกษาคุณสมบัติในการเปลี่ยนสีของสารสกัดในสภาวะกรด-เบสที่มีค่าพีเอช แตกต่างกันไป

2. การทดสอบความเป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส ของสารสกัดดอกอัญชัน

การศึกษาคุณสมบัติความเป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบสของสารสกัดจากส่วนดอกอัญชัน ใช้สารละลายกรด และสารละลายเบสเป็นตัวปรับค่าพีเอช ของสารสกัดจากดอกอัญชัน ทำการปรับค่าพีเอช ตั้งแต่ 1-14 และใช้เครื่องวัดพีเอช เริ่มจากการตรวจสอบสารสกัดดอกอัญชันปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วทำการปรับค่าพีเอชของสารสกัดดอกอัญชันด้วยสารละลาย

กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ให้ได้ค่าพีเอช เท่ากับ 1 ทำการทดลองซ้ำแต่เปลี่ยนสารละลายที่ใช้ในการปรับค่าพีเอช เป็นสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ให้ได้ค่าพีเอช 2, 3 และพีเอช 4 ตามลำดับ ปรับค่าพีเอช ของสารสกัดดอกอัญชันด้วยสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ให้ได้ค่าพีเอช 5, 6, 7 และพีเอช 8 ตามลำดับ ปรับค่าพีเอชของสารสกัดดอกอัญชันด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ให้ได้ค่าพีเอช 9, 10 และพีเอช 11 ตามลำดับ และปรับค่าพีเอช ของสารสกัดดอกอัญชันด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ให้ได้ค่าพีเอช 12, 13 และพีเอช 14 ตามลำดับ แล้วทำการเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงเฉดสีของสารสกัดดอกอัญชันที่ได้จากการปรับค่าพีเอช

3. การศึกษาเวลาที่ใช้สกัด

เพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารจากดอกอัญชัน ใช้ผงดอกอัญชัน 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร สกัดทั้งวันนาน 10 นาที กรองสารสกัดที่ได้ทำการทดลองซ้ำ แต่เปลี่ยนระยะเวลาที่ใช้สกัดเป็น 15, 30, 45 และ 60 นาที ตามลำดับ กรองสารสกัดที่ได้ แล้วสังเกตลักษณะทางกายภาพของสารสกัดและวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่สกัดได้โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน โดยวิธี estimation of total anthocyanin method (Ranganna, 1977)

ซึ่งผงดอกอัญชัน 1 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่เติมสารละลาย Ethanoic HCl (เป็นสารละลายผสมระหว่าง 95% ethanol: 1.5 M HCl อัตราส่วน 85: 15 v/v) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงไปในขวดรูปชมพู่ที่มีดอกอัญชันแห้งบดละเอียดอยู่ แล้วเก็บทิ้งไว้ 1 คืน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำดอกอัญชันที่แช่ด้วยสารละลาย Ethanoic HCl มากรอง เอาเฉพาะส่วนที่เป็นสารละลายใสมาปรับปริมาตรด้วยสารละลาย Ethanoic HCl ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตรแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance, Abs) ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร โดยใช้สารละลาย Ethanoic HCl เป็น blank นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปแทนค่าในสูตรการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน ในหน่วยเป็น มิลลิกรัม/น้ำหนักดอกอัญชัน 100 กรัม สูตรในการคำนวณหาปริมาณสารแอนโทไซยานิน ดังสมการที่ (1) และ (2)

$$\text{Total Absorbance} = \text{Abs at 535 nm} \times \frac{\text{weight (g)}}{\text{Final volume}} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

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

5. การไทเทรตกรด-เบส โดยใช้สารสกัดดอกอัญชันเป็นอินดิเคเตอร์

การไทเทรตกรด-เบส เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดดอกอัญชันที่ใช้เป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์เปรียบเทียบกับอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ ได้แก่ ฟีนอล์ฟทาลีน โบโมไทมอลบูล และเมทิลเรด มีรายละเอียดดังนี้

5.1 การไทเทรตกรดแก่-เบสแก่

ปิเปตสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใช้เป็นไทแทรนด์ และใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร เป็นไทแทรนด์ใช้ฟีนอล์ฟทาไลน์เป็นอินดิเคเตอร์ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นเปลี่ยนอินดิเคเตอร์เป็นสารสกัดจากดอกอัญชัน ทำการทดลองเช่นเดียวกัน ที่ความเข้มข้นของไทแทรนด์ และไทแทรนด์เป็น 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร ตามลำดับ

5.2 การไทเทรตกรดอ่อน-เบสแก่

ปิเปตสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใช้เป็นไทแทรนด์ และใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร เป็นไทแทรนด์ใช้ฟีนอล์ฟทาไลน์เป็นอินดิเคเตอร์ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นเปลี่ยนอินดิเคเตอร์เป็นสารสกัดจากดอกอัญชัน ทำการทดลองเช่นเดียวกันที่ความเข้มข้นของไทแทรนด์ และไทแทรนด์เป็น 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร ตามลำดับ

5.3 การไทเทรตกรดอ่อน-เบสอ่อน

ปิเปตสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นไทแทรนด์และใช้สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร เป็นไทแทรนด์ใช้บอมไทมอลบูลเป็นอินดิเคเตอร์ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นเปลี่ยนอินดิเคเตอร์เป็นสารสกัดจากดอกอัญชัน ทำการทดลองเช่นเดียวกันที่ระดับความเข้มข้นของไทแทรนด์ และไทแทรนด์เป็น 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร ตามลำดับ

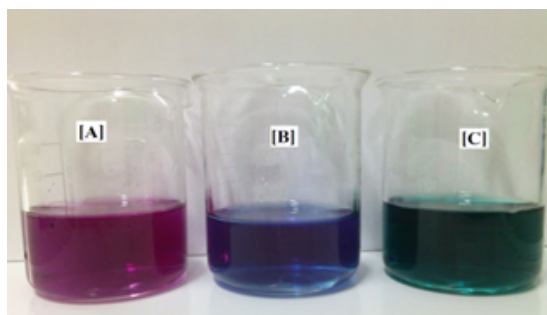
5.4 การไทเทรตกรดแก่-เบสอ่อน

ใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เป็นไทแทรนด์และใช้สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร เป็นไทแทรนด์ใช้อินดิเคเตอร์เป็นเมทิลเรด ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นเปลี่ยนอินดิเคเตอร์เป็นสารสกัดจากดอกอัญชัน ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับที่ความเข้มข้นของไทแทรนด์ และไทแทรนด์เป็น 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร ตามลำดับ

ผลการวิจัย

1. สารสกัดจากดอกอัญชัน

ทำการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ในการวิจัยได้นำดอกอัญชันที่ผ่านการอบแห้งแล้วมาบดด้วยเครื่องบดให้เป็นผงละเอียด ซึ่งผงดอกอัญชัน 1 กรัมต่อตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้นาน 5 นาที กรองสารสกัด จะได้สารสกัดจากดอกอัญชัน ดังภาพที่ 2 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดที่ได้มีสีน้ำเงินอมม่วงโดยที่ [A] เป็นสารสกัดดอกอัญชันในสภาพกรดมีค่าพีเอช 2-3, [B] เป็นสารสกัดดอกอัญชันในสภาพเป็นกลางมีค่าพีเอช 6-7 และ [C] เป็นสารสกัดดอกอัญชันในสภาพเบส มีค่าพีเอชมากกว่า 8



ภาพที่ 2 สีของสารสกัดดอกอัญชันในสภาพสารละลายกรด-เบส

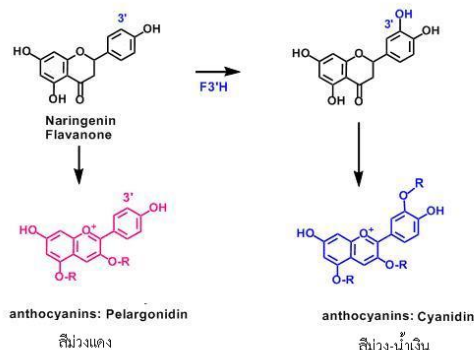
2. ความเป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบสของสารสกัดดอกอัญชัน

ผลการทดสอบความเป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส ของสารสกัดดอกอัญชัน ทำการปรับค่าพีเอช ของสารสกัดจากดอกอัญชันในช่วงพีเอช 1-14 และใช้เครื่องวัดพีเอชเป็นตัวตรวจวัด ในการวิจัยได้ปรับค่าพีเอชของสารสกัดโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก (1.0 M) กรดอะซิติก (0.5 M) แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (0.5 M) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (1.0 M) แล้วทำการเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพโดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงเฉดสีของสารสกัดดอกอัญชันที่ได้จากการปรับค่าพีเอชแล้ว (ตารางที่ 2) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงสีของสารสกัดจากดอกอัญชันดังนี้ คือ เปลี่ยนเป็นสีแดงที่พีเอช 1-2, สีม่วงที่พีเอช 3-4, น้ำเงินที่พีเอช 5-8, สีนํ้าตาลที่พีเอช 9-11 และสีเหลืองที่พีเอชมากกว่า 12

ตารางที่ 2 เฉดสีของสารสกัดดอกอัญชันในช่วงพีเอช 1 ถึง พีเอช 14

สารสกัดดอกอัญชัน	สารละลายที่ใช้ปรับค่าพีเอช (pH)	pH	สีของสารละลาย	
	กรดไฮโดรคลอริก (1.0 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	นํ้าตาลเข้ม	
		10	นํ้าตาล	
		11	นํ้าตาลอ่อน	
	โซเดียมไฮดรอกไซด์ (1.0 M)	12	เหลืองอ่อน	
		13	เหลืองเข้ม	
		14	ขาวใส	

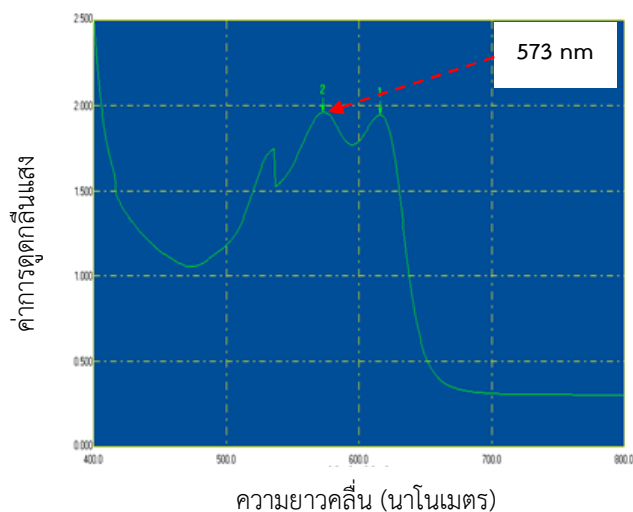
การเปลี่ยนแปลงเฉดสีของแอนโทไซยานินที่มีในสารสกัดดอกอัญชันเกิดจากการแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซี (OH) และหมู่เมทอกซี (OCH₃) ของวงแหวนฟลิวเวียม (flavylum ring) ทำให้แอนโทไซยานินเกิดสีที่แตกต่างกัน คือ เมื่อมีการเพิ่มจำนวนของหมู่ไฮดรอกซีจะทำให้เกิดเฉดสีน้ำเงิน (bluish shade) ส่วนการเพิ่มจำนวนของหมู่เมทอกซีจะทำให้เกิดสีแดง (redness) (พิมพ์เพ็ญ, 2557) รายละเอียดดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงสีของสารแอนโทไซยานินในสภาพกรด-เบส

3. เวลาที่ใช้สกัด

ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมที่ใช้สกัดสารจากดอกอัญชัน ทำการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ได้ โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ในช่วงคลื่นวิสิเบิล 400-800 นาโนเมตร พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารสกัดจากดอกอัญชันปรากฏที่ความยาวคลื่น 573 นาโนเมตร (ภาพที่ 4) โดยระยะเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดสารจากดอกอัญชัน คือ 15 นาที ส่วนเวลาที่ 30, 45 และ 60 นาที (ตารางที่ 3) มีค่าการดูดกลืนแสงใกล้เคียงกัน และไม่ต่างจากค่าที่ได้จากการสกัดที่เวลา 15 นาที



ภาพที่ 4 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกอัญชันในช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร

ตารางที่ 3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกอัญชันเมื่อใช้ระยะเวลาในการสกัดต่างกัน

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

4. ปริมาณสารแอนโทไซยานิน ในสารสกัดดอกอัญชัน

การคำนวณปริมาณสารแอนโทไซยานิน ใช้วิธีการคำนวณแบบ estimation of total anthocyanin method (Rangana, 1997) ปริมาณของสารแอนโทไซยานินที่มีอยู่ในตัวอย่างของดอกอัญชันที่นำมาสกัดเป็นสารอินดิเคเตอร์ สำหรับใช้ในการไทเทรตกรด-เบสปริมาณเท่ากับ 223 มิลลิกรัมต่อปริมาณของดอกอัญชันที่นำมาทดสอบ 100 กรัม โดยมีวิธีการคำนวณดังนี้

ข้อมูลผลการทดลอง

ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร	= 2.21
ปริมาตรสุดท้ายของสารสกัด	= 100 mL
ปริมาณดอกอัญชันที่ใช้ในการสกัด	= 1.01 g
Total Absorbance = $2.21 \times (100 \text{ mL}) / (1.01 \text{ g}) \times 100$	= 21881.21
Total anthocyanin content = $21881.21 / 98.2$	= 223 mg/100 g

ข้อมูลผลการทดลองการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากดอกอัญชันแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกอัญชันวัดที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร 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 $\pm$ SD.	2.21 ± 0.02	222 ± 4

5. การไทเทรตกรด-เบส โดยใช้สารสกัดดอกอัญชันเป็นอินดิเคเตอร์

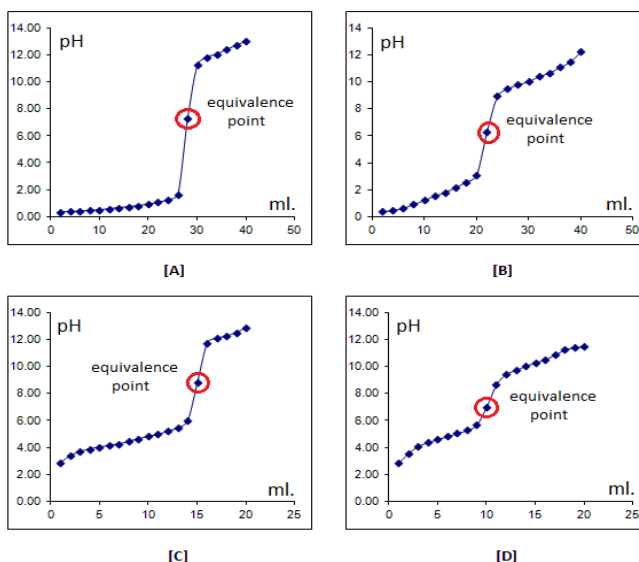
สารสกัดดอกอัญชันที่นำมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรด-เบส นำมาเปรียบเทียบกับการใช้อินดิเคเตอร์สังเคราะห์ ได้แก่ ฟีนอล์ฟทาลีน โบโมไทมอลบูล และเมทิลเรด โดยทำการไทเทรตทั้ง 4 แบบ ได้แก่ การไทเทรตกรดแก่-เบสแก่ การไทเทรตกรดแก่-เบสอ่อน การไทเทรตกรดอ่อน-เบสแก่ และการไทเทรตกรดอ่อน-เบสอ่อน ผลการเปรียบเทียบปริมาณของสารละลายเบสที่ใช้เป็นไทเทรนต์เมื่อมีการใช้สารละลายอินดิเคเตอร์ที่แตกต่างกัน ให้ผลที่ไม่แตกต่างกันมากนัก (ตารางที่ 5) และได้ค่าพีเอชของสารละลายที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งค่าพีเอชนี้ในการไทเทรตจะเป็น

ค่าที่แสดงจุดยุติ (equivalence point) (ภาพที่ 5) ของสารละลายโดยใช้เครื่องวัดพีเอช ในการตรวจวัด และสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายได้อย่างชัดเจนเช่นเดียวกับการใช้ อินดิเคเตอร์สังเคราะห์

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบปริมาณของสารละลายเบสที่ใช้การเปลี่ยนแปลงเฉดสี และค่าพีเอชของสารละลายที่ใช้ในการไทเทรตกรด-เบส เมื่อมีการใช้อินดิเคเตอร์ต่างชนิดกัน

Acid-Base titrations	Indicator solution	Used alkaline solution volume (mL)	Color changes	pH
strong acid - strong base (HCl and NaOH)	bromothymol blue	30.50	Yellow - Blue	7.52
	1% w/v butterfly pea solution	31.50	Transparent -Blue	7.71
strong acid - weak base (HCl and NH_4OH)	methyl red	20.50	Red - Yellow	6.49
	1% w/v butterfly pea solution	22.50	Transparent -Blue	6.83
weak acid - strong base (CH_3COOH and NaOH)	phenolphthalein	13.50	Transparent -Pink	8.31
	1% w/v butterfly pea solution	14.50	Transparent -Blue	8.75
weak acid - weak base (CH_3COOH and NH_4OH)	bromothymol blue	10.50	Yellow - Blue	7.26
	1% w/v butterfly pea solution	10.00	Transparent -Blue	7.02

หมายเหตุ ความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ในการไทเทรต $[\text{HCl}] = 1.0 \text{ M}$, $[\text{CH}_3\text{COOH}] = 1.0 \text{ M}$, $[\text{NaOH}] = 0.5 \text{ M}$, $[\text{NH}_4\text{OH}] = 0.5 \text{ M}$



ภาพที่ 5 กราฟการไทเทรตที่ได้จากการไทเทรตกรด-เบสทั้ง 4 ชนิดโดยใช้สารสกัดดอกอัญชัญเป็นอินดิเคเตอร์

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

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

สรุปผลการวิจัย

การไทเทรตกรด-เบสโดยใช้สารสกัดดอกอัญชันเป็นอินดิเคเตอร์ สามารถเตรียมสารสกัดดอกอัญชันได้โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการสกัดสารจากดอกอัญชันหนัก 1 กรัม จะได้สารสกัดดอกอัญชันที่มีลักษณะเป็นสีม่วงแกมน้ำเงิน เมื่อนำสารสกัดดอกอัญชันที่ได้ไปทดสอบความเป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส โดยทำการปรับค่าพีเอชตั้งแต่ 1-14 จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเฉดสีของสารได้อย่างชัดเจน โดยใช้ระยะเวลาในการสกัด 15 นาที เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 573 นาโนเมตร ได้ค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 2.47 สารสกัดดอกอัญชันที่สกัดได้มีปริมาณของสารแอนโทไซยานิน เท่ากับ 223 มิลลิกรัมต่อปริมาณของดอกอัญชัน 100 กรัม และเมื่อนำสารสกัดดอกอัญชันมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรด-เบสทั้ง 4 แบบ ได้แก่ การไทเทรตกรดแก่-เบสแก่ กรดแก่-เบสอ่อน กรดอ่อน-เบสอ่อน และกรดอ่อน-เบสแก่ โดยเปรียบเทียบกับอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ฟีนอล์ฟทาลีน โบโมไทมอลบูล และเมทิลเรด ผลที่ได้มีความใกล้เคียงกัน ซึ่งอินดิเคเตอร์ธรรมชาติที่สกัดจากดอกอัญชันมีคุณสมบัติที่ดีในการทำตัวเป็นสารบ่งชี้หรืออินดิเคเตอร์สำหรับสารละลายกรด-เบส ดังนั้นจึงสามารถนำมาใช้แทนที่กรด-เบสอินดิเคเตอร์สังเคราะห์สำหรับการไทเทรตกรด-เบสได้ นอกจากนี้ดอกอัญชัน ยังมีราคาถูกลงได้โดยง่ายในท้องถิ่น การสกัดทำได้ไม่ยุ่งยาก และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเนื่องจากใช้น้ำเป็นตัวทำละลายนั่นเอง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่ช่วยสนับสนุนอุปกรณ์ เครื่องแก้ว และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กัญทิมา แสงวงศ์. (2551). การสกัดแอนโทไซยานินจากดอกไม้เพื่อใช้เป็นสารอินดิเคเตอร์. ปริญญาวิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาเคมีศึกษา คณะบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ชนิดา ญาณถวิล และอนุลักษณ์ ไชยบุตร. (2552). อินดิเคเตอร์จากดอกอัญชันและกะหล่ำปลีม่วง. ปริญญาวิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาเคมีประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. (2557). โครงสร้างของสารแอนโทไซยานินชนิดสีแดงและสีม่วง-น้ำเงิน. www.foodnetworksolution.com. เข้าถึงวันที่ 12 กันยายน 2558.
- วิแทน ปวกพรมมา. (2556). การศึกษาสมบัติความเป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติของแก่นฝางและดอกหาม่วยสำหรับ การไทเทรตกรด-เบส. ปริญญาวิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาเคมีศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- Jackman, R.L. & Smith, J.L. (1992). **Anthocyanins and Betalains**. In: Hendry, G.A.F. and Houghton, J.D. *Natural Food Colorants*. London: Blackie Academic, pp. 183-241.
- Morris, J.B. (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.
- Ranganna, S. (1977). **Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Products**. New Delhi: McGraw Hill Publishing.
- Singh, S., Bothara, S.B., Singh, S., Patel, R. & Mahobia, N. (2010). Preliminary pharmaceutical characterization of flowers as natural indicator: acid – base indicator. *The Pharma Research*, 4, 83-90.