พืชมีสีกับการเป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติ

รัตนา วงศ์ชูพันธ์[1]* ขวัญกมล ชูนิ่ม[1] เฉลิมพร ทองพูน[2] และณัฐพันธ์ สงวนศักดิ์บารมี[1]
[1]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี
[2]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
*corresponding author email: wongchuphanr@yahoo.com

บทคัดย่อ

สารสกัดจากพืชธรรมชาติด้วยน้ำสี่ชนิด คือ ดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า ดอกชบา และกะหล่ำปลีม่วง ได้ถูกนำมาทดสอบสมบัติการเป็นอินดิเคเตอร์ และการนำไปใช้ในการไทเทรตกรด-เบส รวมถึงการหาปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดด้วยเอทาโนอิกไฮโดรคลอริก ผลการศึกษาพบว่า เวลาที่เหมาะสมในการสกัดด้วยน้ำ 30 นาที และสารสกัดด้วยน้ำของพืชทั้งสี่ชนิดมีช่วงการเปลี่ยนสีที่ชัดเจนแตกต่างกันทุกค่าพีเอช อย่างไรก็ตามสารสกัดจากดอกชบาและดอกอัญชันสามารถใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรด-เบสทั้งสามระบบซึ่งเทียบเคียงได้กับอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ ดังนั้นสารสกัดจากพืชธรรมชาติในท้องถิ่นดังกล่าวสามารถเป็นอินดิเคเตอร์ที่ประหยัด ง่าย และให้ผลที่ถูกต้อง ส่วนปริมาณแอนโทไซยานินใน Ethanoic HCl พบมากที่สุดในดอกชบา

คำสำคัญ: พืชมีสี อินดิเคเตอร์ธรรมชาติดอกไม้ กะหล่ำปลีม่วง การไทเทรตกรด-เบส

COLORED PLANTS USED AS NATURAL INDICATORS

Rattana Wongchuphan[1]*, Khwankamol Choonim[1], Chalermporn Thongpoon[2], and Nattapan Saguansakbaramee[1]
[1]Faculty of Science and Technology, Suratthani Rajabhat University
[2]Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University
*corresponding author e-mail: wongchuphanr@yahoo.com

Abstract

Water extraction of four different plants including butterfly pea, paper flower, shoe flower, and red cabbage, was tested on their indicator properties and application on acid-base titration. Total of anthocyanin in the ethanoic HCl extract was also estimated. The result showed that 30 min of extraction time was optimum and sharp color changes of anthocyanin in water plant extracts were occurred by pH changes. However, the equivalence points obtained by two flower extracts corresponded with the equivalence points obtained by standard indicators. Consequently, natural indicators extracted from local plants were found to be a

very useful, economical, simple and accurate for the titrations. Butterfly pea flower produced the highest average amount of anthocyanins.

Keywords: colored plant, natural indicator, flower, red cabbage, acid-base titration

บทนำ

ความเป็นกรด-เบสของสารต่าง ๆ ในชีวิตประจำวัน เป็นสิ่งใกล้ตัวมีทั้งประโยชน์และโทษต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก กรดและเบสมีฤทธิ์กัดกร่อนต่อโลหะ หรือทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อ ผิวหนังเมื่อสัมผัสโดยตรงหรือจากการสูดดมหายใจเข้าไป ความรุนแรงขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของสารเคมีนั้น ๆ ดังนั้นเราควรจะเลือกใช้สารต่าง ๆ อย่างระมัดระวังและเหมาะสม ความเป็นกรด-เบส จัดเป็นสมบัติเฉพาะตัวอย่างหนึ่งของสารซึ่งสามารถทดสอบได้หลายวิธี เช่น กระดาษลิตมัส ยูนิเวอร์ซัลอินดิเคเตอร์และเครื่องวัดค่าพีเอช งานวิจัยที่ผ่านมาได้นำความรู้ที่ได้จากการพัฒนาอินดิเคเตอร์จากพืชธรรมชาติ ไปเป็นชุดทดสอบค่าพีเอชของน้ำทิ้งในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ (Suppadit et al. 2011) และรีเอเจนต์ธรรมชาติสำหรับงานวิเคราะห์ทางเคมี ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Ueda et al. 2010)

ในปัจจุบันอินดิเคเตอร์ที่ใช้กันทั่วไป เป็นอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ที่ให้สีชัดเจนแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามสารสังเคราะห์ประเภทนี้เป็นอันตรายและมีราคาสูงเนื่องจากต้นทุนในการผลิตสูง และอาจทำลายสิ่งแวดล้อม งานวิจัยหลายฉบับได้นำเสนอวิธีการพัฒนาอินดิเคเตอร์จากพืชในธรรมชาติที่มีสีสันและสามารถหาได้ในท้องถิ่น อาทิเช่น ผัก ผลไม้ ดอกไม้ที่มีสีแดง สีน้ำเงินและสีม่วงบางชนิด (ชญานาถ, 2550; กัญทิมา, 2551; Gupta et al. 2012; ปิยะวัฒน์, 2557; เฉลิมพร และปิยะวัฒน์, 2558) แก่นฝางและดอกหมามุ่ย (วิแทน, 2556) ในทางทฤษฎี สารมีสีที่สามารถเกิดการเปลี่ยนสีกลับไปมาได้เมื่อค่าพีเอชเปลี่ยน จัดเป็นสารที่มีสมบัติในการเป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส

รงควัตถุที่ให้สีแดง สีน้ำเงินและสีม่วงกับพืช จัดเป็นสารประกอบทางเคมีที่เรียกว่า แอนโทไซยานิน (Anthocyanins) ซึ่งเปลี่ยนสีได้เมื่อค่าพีเอชเปลี่ยน กล่าวคือ โครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานินขึ้นอยู่กับค่าพีเอชในเนื้อเยื่อพืชชนิดนั้น (Suppadit et al. 2011) แอนโทไซยานินเป็นสารที่ละลายน้ำได้ดี และมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยรู้จักกันทั่วไปว่า สารต้านอนุมูลอิสระ หรือ Antioxidant ซึ่งช่วยชะลอการเสื่อมของเซลล์ (ชื่นสุมณ และรวมพร, 2557) แอนโทไซยานินที่สกัดได้จากพืชธรรมชาติมีหลากหลายรูปแบบทั้งนี้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างภายในโมเลกุล อาทิเช่น ไซยานิคลิน (Cyaniclin) เป็นแอนโทไซยานินที่อยู่ในกะหล่ำปลีม่วง สรรพคุณของแอนโทไซยานินมีมากมาย ได้แก่ ช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและเส้นเลือดอุดตันในสมอง ด้วยการยับยั้งไม่ให้เลือดจับตัวเป็นก้อน ชะลอความเสื่อมของดวงตา ช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) อีโคไล (*Escherichia coli*) ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงและอาหารเป็นพิษด้วย (Lila, 2004; พิมพ์เพ็ญ, 2558)

ส่วนดอกของพืชที่มีสีทั้งสีแดง ม่วง น้ำเงินหลายชนิดจะมีสารแอนโทไซยานิน (Bondre et al., 2012) เป็นองค์ประกอบ เช่น ดอกเฟื่องฟ้า ดอกชบาแดง กะหล่ำปลีม่วง และดอกอัญชัน เป็นต้น ดอกเฟื่องฟ้า (Paper flower) จัดอยู่ในวงศ์บานเย็น (Nyctaginaceae) มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Bougainvillea spp.* เฟื่องฟ้าเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางประเภทเถาเลื้อย ใช้เป็นไม้ประดับที่มีหลากสีหลายพันธุ์ และนำมาประกอบอาหารได้ดอกชบา (Shoe flower, Hibiscus หรือ Chinese

rose) จัดอยู่ในวงศ์ชบา (Malvaceae) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า **Hibiscus rosa-sinensis** L. สรรพคุณของดอกชบาแดง คือช่วยบำรุงผิวพรรณ ฟอกโลหิต บำรุงโลหิต แก้ประจำเดือนมาไม่สม่ำเสมอ และบรรเทาอาการของโรคที่เกี่ยวกับไต รวมถึงนำมาทำเป็นสีย้อมผ้าได้ซึ่งจะให้สีดำกะหล่ำปลีม่วง (Red cabbage) จัดอยู่ในวงศ์กะหล่ำ (Brassicaceae) และมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า **Brassica oleracea** L. var. **capitata** ใบกะหล่ำปลีชนิดนี้มีสีม่วงแดงเนื่องจากมีสารแอนโทไซยานินมากเป็นพิเศษ (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2544) โดยทั่วไปนิยมปลูกเป็นไม้ประดับ และนิยมรับประทานเป็นผักสดในจานสลัด สารอินไทบินัวนี้มีส่วนสำคัญต่อกระบวนการเผาผลาญสารอาหารในร่างกาย ช่วยกระตุ้นให้เลือดไหลเวียนไปหล่อเลี้ยงตับ ถุงน้ำดี ไต และกระเพาะดีขึ้นนอกจากนี้กะหล่ำปลีสีม่วงยังอุดมด้วยธาตุเหล็กจึงช่วยเสริมฮีโมโกลบินให้แก่ร่างกาย กะหล่ำปลีม่วงมีสารเอสเมธิลเมโธโอนิน สามารถรักษาโรคกระเพาะอาหาร และยังพบว่ามีสารต้านมะเร็งโดยเฉพาะหยุดยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งลำไส้ มีการวิจัยพบกะหล่ำปลีใช้ประคบเต้านมลดปวดแก้นมคัดแม่หลังคลอด กะหล่ำปลีม่วง (สถาบันวิจัยสมุนไพร, 2556) เป็นพืชที่มีเยื่อใยอาหารสูง และอุดมไปด้วยคุณค่าสารอาหารหลายชนิด เช่น โปรตีน (สาร indols ซึ่งเป็นผลึกที่แยก มาจาก tryptophan กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย) คาร์โบไฮเดรต โซเดียม วิตามินซี ซึ่งพบค่อนข้างมากกว่ากะหล่ำปลีสีเขียวถึงสองเท่า ซึ่งจะช่วยป้องกันโรคเลือดออกตามไรฟัน มีสารซัลเฟอร์ (Sulfer) ช่วยกระตุ้นการทำงานของลำไส้ใหญ่และต้านสารก่อมะเร็งที่เข้าสู่ร่างกาย การกินกะหล่ำปลีเป็นประจำ จะช่วยลดโอกาสเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ โรคมะเร็งในช่องท้อง ลดระดับโคเลสเตอรอลจะช่วยงับประสาท ทำให้นอนหลับดี น้ำกะหล่ำปลีคั้นสด ๆ ช่วยรักษาโรคกระเพาะ อย่างไรก็ตาม กะหล่ำปลีมีสารชนิดหนึ่ง ที่เรียกว่า กอยโตรเจน (Goitrogen) เล็กน้อย ถ้าสารนี้มีมากจะไปขัดขวางการทำงานของต่อมไทรอยด์ ทำให้นำไอโอดีนในเลือดไปใช้ได้น้อย จึงเป็นสาเหตุของโรคคอพอกได้หากรับประทานสดมากถึง 1-2 กิโลกรัมต่อวัน ส่วนดอกอัญชัน (Butterfly pea) จัดอยู่ในวงศ์ถั่ว (Fabaceae) และมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า **Clitoriaternatea** L. อัญชันมีสรรพคุณต่อต้านอนุมูลอิสระ รักษาอาการผมร่วง ช่วยปลูกผม ทำให้ผมดกดำขึ้น แก้อาการฟกช้ำ แก้เหน็บชา รวมถึงนำมาทำสีผสมอาหารซึ่งจะให้สีม่วง

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาเกี่ยวกับการสกัดอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ คือ ดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า ดอกชบา และกะหล่ำปลีม่วง ซึ่งมีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบในการเปลี่ยนเฉดสีเมื่อค่าพีเอชเปลี่ยนแปลงไป รวมถึงความเข้มข้นและจำนวนหยดที่เหมาะสมเมื่อนำอินดิเคเตอร์เหล่านี้ไปใช้ในการไทเทรตสามระบบ คือ การไทเทรตกรดแก่ด้วยเบสแก่ การไทเทรตกรดอ่อนด้วยเบสแก่ และการไทเทรตกรดแก่ด้วยเบสอ่อนโดยการเทียบเคียงประสิทธิภาพกับอินดิเคเตอร์มาตรฐาน ได้แก่ โบรโมไทมอลบลู ฟีนอล์ฟทาลีน และเมทิลเรด นอกจากนี้ยังต้องการหาปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดจากดอกไม้ทั้งสามชนิด และกะหล่ำปลีม่วงโดยอาศัยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาเวลาที่ใช้ในการสกัดสีจากพืชธรรมชาติ

สารสกัดจากพืชธรรมชาติ เตรียมโดยนำใช้ดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า ดอกชบา ที่เก็บมาจากแหล่งปลูกในเขตอำเภอชัยบุรี จังหวัดสุราษฎร์ธานี และกะหล่ำปลีม่วงที่ซื้อมาจาก

ห้างสรรพสินค้าบิ๊กซี จังหวัดสุราษฎร์ธานี มาสกัดด้วยน้ำ มีขั้นตอนดังนี้นำส่วนที่เป็นดอกหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ พอประมาณนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำดอกที่อบแห้งแล้วไปบดให้ละเอียด

ชั่งตัวอย่างที่แห้งของดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า และดอกชบารวมถึงกะหล่ำปลีม่วงสดชิ้นเล็ก ๆ อย่างละ 1.0 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 mL ตวงน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL (สารสกัดเข้มข้น 1% (w/v)) เพื่อใช้เป็นตัวทำละลายใช้เวลาในการสกัดนาน 30, 60, 90 และ 120 นาที กรองสารสกัดจากบีกเกอร์โดยใช้กระดาษกรองวอทแมน เบอร์ 1 บันทึกสีของสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด กรองก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Shimadzu, ประเทศญี่ปุ่น)

การศึกษาสมบัติความเป็นอินดิเคเตอร์ของสารสกัดจากพืชธรรมชาติ

การศึกษาสมบัติความเป็นอินดิเคเตอร์ของสารสกัดจากดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า ดอกชบา และกะหล่ำปลีม่วงมีขั้นตอนดังนี้ เตรียมสารละลายที่มีค่าพีเอชตั้งแต่ 1-14 โดยนำสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 M ปรับค่าพีเอชด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0 M และใช้เครื่องวัดค่าพีเอชเป็นตัวตรวจวัดค่าหลังจากนั้นนำสารละลายที่เตรียมได้อย่างละ 10 mL ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 ml (จำนวน 3 ชุด) แล้วหยดสารสกัดจากพืชธรรมชาติ ได้แก่ สารสกัดดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า และกะหล่ำปลีม่วง อย่างละ 10 หยด และสารสกัดดอกชบา 20 หยด เทียบกับอินดิเคเตอร์มาตรฐาน ได้แก่ โบรโมไทมอลบลู ฟีนอล์ฟทาลีน และเมทิลเรด อย่างละ 3 หยด บันทึกสีของอินดิเคเตอร์ที่ค่าพีเอชต่าง ๆ

การไทเทรตกรด-เบส โดยใช้สารสกัดจากพืชธรรมชาติเป็นอินดิเคเตอร์

การไทเทรตกรด-เบส โดยมีอินดิเคเตอร์เป็นสารสกัดจากพืชธรรมชาติ และเปรียบเทียบผลกับอินดิเคเตอร์มาตรฐานที่ความเข้มข้นเท่ากัน คือ 1% (w/v) แต่ละระบบของการไทเทรตมีขั้นตอนดังนี้

การไทเทรตกรดแก่ด้วยเบสแก่

สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (หรือไทแทรนด์) ที่ต้องการหาความเข้มข้น ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 mL ปริมาตร 10 mL หยดโบรโมไทมอลบลู 3 หยด เขย่าสารละลายในขวดให้เข้ากัน จากนั้นนำมาไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0 M ที่บรรจุอยู่ในบิวเรต จนกระทั่งสารละลายในขวดรูปชมพู่เปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดงทำซ้ำ 3 ครั้งและเปรียบเทียบความเข้มข้นที่คำนวณได้กับความเข้มข้นจริงของไทแทรนด์

ทำการไทเทรตเช่นเดียวกันแต่เปลี่ยนอินดิเคเตอร์เป็นสารสกัดจากพืชธรรมชาติ เข้มข้น 1% (w/v) หยดสารสกัดดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า และกะหล่ำปลีม่วง อย่างละ 10 หยด และสารสกัดดอกชบา 20 หยด ทำซ้ำ 3 ครั้ง และเปรียบเทียบความเข้มข้นที่คำนวณได้กับความเข้มข้นจริงของไทแทรนด์

การไทเทรตกรดอ่อนด้วยเบสแก่

สารละลายกรดแอซิติกเป็นไทแทรนด์ปริมาตร 10 mL หยดฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด เขย่าสารละลายในขวดให้เข้ากัน จากนั้นนำมาไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0 M ที่บรรจุอยู่ในบิวเรต จนสารละลายในขวดรูปชมพู่เปลี่ยนจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพูอ่อนถาวรทำซ้ำ 3 ครั้ง และเปรียบเทียบความเข้มข้นที่คำนวณได้กับความเข้มข้นจริงของไทแทรนด์

การไทเทรตทำเช่นเดียวกัน แต่เปลี่ยนอินดิเคเตอร์จากฟีนอล์ฟทาลีนเป็นสารสกัดจากพืชธรรมชาติ เข้มข้น 1% (w/v) โดยหยดสารสกัดดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า และกะหล่ำปลีม่วง อย่างละ 10 หยด และสารสกัดดอกชบา 20 หยด และเปรียบเทียบความเข้มข้นที่คำนวณได้กับความเข้มข้นจริงของไทแทรนด์

การไทเทรตเบสอ่อนด้วยกรดแก่

สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เป็นไทแทรนด์ปริมาตร 10 mL หยดเมทิลเรด 3 หยด เขย่าสารละลายในขวดให้เข้ากัน จากนั้นนำมาไทเทรตด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 M ที่บรรจุอยู่ในบิวเรตจนสารละลายในขวดรูปชมพู่เปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลืองทำซ้ำ 3 ครั้ง ทำการไทเทรตเช่นเดียวกัน แต่เปลี่ยนอินดิเคเตอร์จากเมทิลเรดเป็นสารสกัดจากพืชธรรมชาติ เข้มข้น 1% (w/v) หยดสารสกัดดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า และกะหล่ำปลีม่วง อย่างละ 10 หยด และสารสกัดดอกชบา 20 หยด และเปรียบเทียบความเข้มข้นที่คำนวณได้กับความเข้มข้นจริงของไทแทรนด์

การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสารสกัดจากพืชตัวอย่าง

ปริมาณสารแอนโทไซยานินหาได้โดยวิธีที่เรียกว่า estimation of total anthocyanin method (Ranganna, 1997) โดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม คือ Ethanoic HCl (Suppadit et al., 2011) ทั้งนี้เนื่องจากตัวทำละลายที่เป็นกรดแก่มีผลต่อความเสถียรของแอนโทไซยานินในสารสกัด (Castaneda-Ovando et al. 2009) เริ่มต้นจากการนำดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า ดอกชบา และดอกกะหล่ำปลีม่วง ที่อบแห้งแล้วมาบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนัก (Weight) 1.0 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL เติมสารละลาย Ethanoic HCl (สารละลายผสมระหว่าง 95% Ethanol และ HCl เข้มข้น 1.5 M ในอัตราส่วน 85 : 15 โดยปริมาตร) ปริมาตรรวม 25 mL แล้วตั้งไว้ 1 คืน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำสารสกัดจากพืชธรรมชาติใน Ehtanoic HCl มากรอง และนำเฉพาะส่วนที่เป็นสารละลายใสมาปรับปริมาตรสุดท้าย (Final volume) เป็น 100 mL

การวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance; Abs) ของสารสกัดจากพืชธรรมชาติใน Ethanoic HCl ณ ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารสกัดจากพืชทั้งสี่ชนิดแตกต่างกัน ดังนี้ 535 นาโนเมตร (ดอกอัญชัน) 520 นาโนเมตร (ดอกเฟื่องฟ้า) 533 นาโนเมตร (ดอกชบา) และ 536 นาโนเมตร (กะหล่ำปลีม่วง) โดยใช้สารละลาย Ethanoic HCl เป็น Blank เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปแทนในสมการที่ 1 และสมการที่ 2 ผลรวมของปริมาณสารแอนโทไซยานินที่คำนวณได้มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อน้ำหนักของพืช 100 กรัม

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

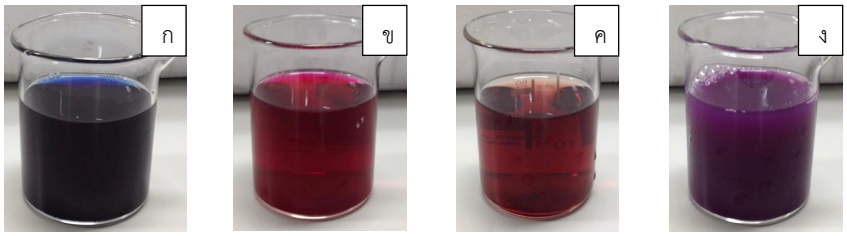
$$\text{Total Anthocyanin content} = \frac{\text{Total Absorbance}}{98.2} \quad \text{.....(2)}$$

เมื่อ 98.2 คือ extinction coefficient ของ dephinidinglucoside ที่ได้จากการทดลอง

ผลการวิจัย และอภิปรายผล

ผลของการศึกษาเวลาที่ใช้ในการสกัดสีจากพืชธรรมชาติ

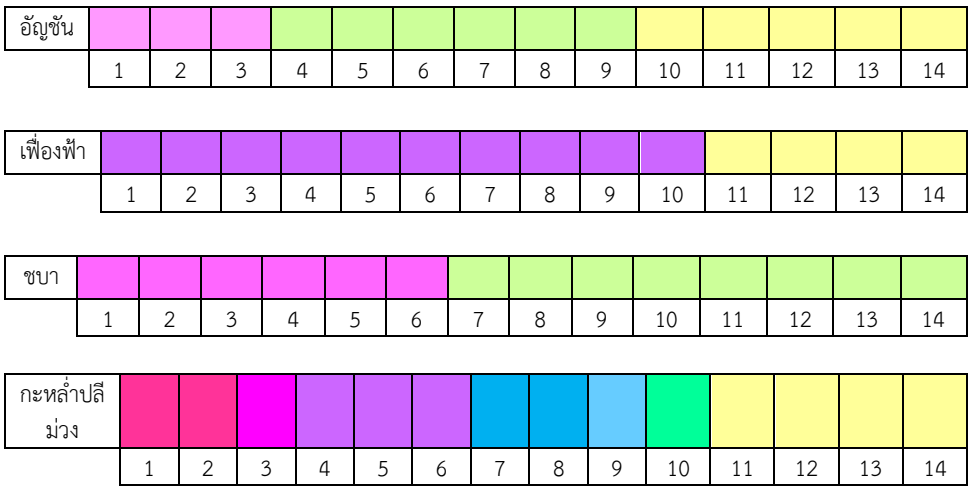
เวลาที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อความเข้มของสีที่ออกมาจากพืช เมื่อนำสารมีสีที่สกัดได้จากดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า ดอกชบา และกะหล่ำปลีม่วงไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ในช่วงความยาวคลื่น 400-800 nm พบว่า สารสกัดจากดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า ดอกชบา และกะหล่ำปลีม่วงซึ่งมีสีน้ำเงิน สีแดงอมชมพู สีแดงเข้ม และสีม่วงตามลำดับ (ภาพที่ 1) มีค่าการดูดกลืนแสงคงที่หลังจากเวลาผ่านไป 30 นาที ดังนั้นในการสกัดสีจากพืชทั้งสี่ชนิดด้วยน้ำใช้เวลาครึ่งชั่วโมง โดยไม่มีปริมาณของสารมีสีเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 1 สีของสารสกัดจาก (ก) ดอกอัญชัน (ข) ดอกเฟื่องฟ้า (ค) ดอกชบา (ง) กะหล่ำปลีม่วง

ผลของการศึกษาสมบัติความเป็นอินดิเคเตอร์ของสารสกัดจากพืชธรรมชาติ

สารสกัดจากดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า ดอกชบา และกะหล่ำปลีม่วง มีสีแตกต่างกันเมื่ออยู่ในสารละลายที่มีความเป็นกรด-เบสตั้งแต่ค่าพีเอช 1 ถึง 14 (ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ทดสอบเท่ากับ 10 mL) ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงสีของสารสกัดจากพืชธรรมชาติในสารละลายที่มีค่าพีเอชตั้งแต่ 1-14

ผลการให้สีต่าง ๆ ที่ค่าพีเอชตั้งแต่ 1 ถึง 14 สามารถบอกช่วงการเปลี่ยนสีที่แตกต่างกันของสารสกัดจากพืชธรรมชาติ หรืออาจกล่าวได้ว่าสารสกัดดังกล่าวแสดงเฉดสีต่างกันชัดเจนเมื่อ

ค่า พีเอชเปลี่ยนแปลงไปนั้น สิ่งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากพืชธรรมชาติเหล่านี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์ได้ สารสกัดจากดอกอัญชันเข้มข้น 1% w/v จะมีช่วงการเปลี่ยนสีอยู่ 2 ช่วงที่สามารถมองเห็นได้ชัดเจน (จำนวน 10 หยดต่อสารละลาย 10 mL) คือช่วงแรกสารสกัดมีการเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีม่วงที่ค่าพีเอช 3-4 และช่วงที่สองสารสกัดมีการเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองที่ค่าพีเอช 10-11 ส่วนสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าเข้มข้น 1% (w/v) จะมีช่วงการเปลี่ยนสีที่ชัดเจน (จำนวน 10 หยดต่อสารละลาย 10 mL) จากสีแดงเป็นสีเหลืองที่ค่าพีเอช 10-11 ในขณะที่สารสกัดดอกชบาเข้มข้น 1% w/v จะมีช่วงการเปลี่ยนสีที่ชัดเจน (จำนวน 20 หยดต่อสารละลาย 10 mL) จากสีแดงเป็นสีเขียวอ่อนที่ค่าพีเอช 6-7 สำหรับสารสกัดกะหล่ำปลีม่วงเข้มข้น 1% w/v จะมีช่วงการเป็นสีที่ชัดเจน (จำนวน 10 หยดต่อสารละลาย 10 mL) อยู่ 2 ช่วง คือช่วงแรกมีการเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีม่วงที่ค่าพีเอช 2-4 และช่วงที่สองมีการเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลืองที่ค่าพีเอช 10-11 ตารางที่ 1 สรุปให้เห็นช่วงการเปลี่ยนสีที่ชัดเจนมากขึ้น

ตารางที่ 1 ช่วงการเปลี่ยนสีของสารสกัดดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า ดอกชบา และกะหล่ำปลีม่วง

ชนิดของพืช	ช่วงการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ (ค่าพีเอช)
ดอกอัญชัน	สีแดง-สีเขียว (3.0-4.0)
	สีเขียว-สีเหลือง (10.0-11.0)
ดอกเฟื่องฟ้า	สีม่วง-สีเหลือง (10.0-11.0)
ดอกชบา	สีแดง-สีเขียว (6.0-7.0)
กะหล่ำปลีม่วง	สีแดง-สีม่วง (2.0-4.0)
	สีเขียว-สีเหลือง (10.0-11.0)

จากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชธรรมชาติทั้งสี่ชนิดที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ปรากฏความชัดเจนของสี เมื่อจำนวนหยดที่ใช้อยู่ในช่วง 10-20 หยด สำหรับทุกค่าพีเอช ดังนั้นในการใช้งานจริง เราสามารถเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด เพื่อลดจำนวนหยดที่ใช้ตามสัดส่วนที่เสนอไว้ในงานนี้

ผลของการไทเทรตกรด-เบสด้วยอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ

การไทเทรตกรดแก่ด้วยเบสแก่ โดยมีกรดไฮโดรคลอริกเป็นไทแทรนด์ปริมาตรที่ใช้เท่ากับ 10.00 mL และมีสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0 M เป็นตัวไทแทรนต์ในระบบนี้จุดสมมูลของการไทเทรตกรดแก่ด้วยเบสแก่อยู่ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7.00

อินดิเคเตอร์ที่เหมาะสมสำหรับการไทเทรตกรดแก่-เบสแก่หรือกล่าวได้ว่า อินดิเคเตอร์มีช่วงการเปลี่ยนสีที่ค่าพีเอชใกล้เคียงกับจุดสมมูลของกรดแก่กับเบสแก่คือ สารสกัดจากดอกชบาที่มีช่วงการเปลี่ยนสีที่ค่าพีเอช 6-7 จากสีแดงเป็นสีเขียวอ่อน ซึ่งสารสกัดดอกชบามีจุดยุติใกล้เคียงกับจุดสมมูลของการไทเทรตกรดแก่-เบสแก่ (พิจารณาข้อมูลในภาพที่ 2 และตารางที่ 1) เมื่อหยดสารสกัดจำนวน 20 หยด อย่างไรก็ตามหากพิจารณาผลการไทเทรต พบว่าปริมาตรเฉลี่ยของ NaOH ที่ใช้ (10.07 mL และ 9.97 mL) ใกล้เคียงกับค่าจริงเมื่อมีสารสกัดดอกอัญชัน และสารสกัดกะหล่ำปลีม่วงเป็นอินดิเคเตอร์ตามลำดับ ร่วมกับกราฟการไทเทรต (ไม่แสดงในรายงานนี้) สารสกัดจากดอกอัญชันสามารถใช้เป็นอินดิเคเตอร์ได้ เนื่องจากค่าพีเอชที่จุดสมมูลอยู่ในช่วงการเปลี่ยนสีที่เป็นรูปเบส

ของอินดิเคเตอร์ส่วนสารสกัดจากกะหล่ำปลีม่วงอาจจะนำมาใช้ได้ แต่การเปลี่ยนสีจะต้องเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีน้ำเงิน ผลที่ได้รวบรวมในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 อินดิเคเตอร์จากพืชธรรมชาติกับอินดิเคเตอร์มาตรฐานเมื่อใช้ในการไทเทรตกรด-เบส

ไทแทรนต์	ไทแทรนต์	การเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์	
		มาตรฐาน	ธรรมชาติ
NaOH	HCl	โบรโมไทมอลบลู สีเหลือง-สีน้ำเงิน (6.0-7.6)	ดอกชบา สีแดง-สีเขียว (6.0-7.0)
NaOH	CH_3COOH	ฟีนอล์ฟทาลีน ไม่มีสี-สีแดง (8.0-9.8)	ดอกชบา สีแดง-สีเขียว (6.0-7.0)
HCl	NH_4OH	เมทิลเรด สีแดง-สีเหลือง (4.4-6.2)	ดอกชบา สีแดง-สีเขียว (6.0-7.0) ดอกอัญชัน สีแดง-สีเขียว (3.0-4.0)

การไทเทรตกรดอ่อนด้วยเบสแก่ โดยมีกรดอะซิติกเข้มข้น 1.0 M เป็นไทแทรนต์ปริมาตรที่ใช้เท่ากับ 10.00 mL และใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0 M เป็นตัวไทแทรนต์ ในระบบนี้จุดสมมูลของการไทเทรตกรดอ่อนด้วยเบสแก่อยู่ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 8.70

อินดิเคเตอร์ที่สามารถใช้ในการไทเทรตกรดอ่อนด้วยเบสแก่ คือ สารสกัดจากดอกชบา จำนวน 20 หยด เนื่องจากค่าพีเอชที่จุดสมมูลอยู่ในช่วงการเปลี่ยนสีที่เป็นรูปเบสของอินดิเคเตอร์ ส่วนอินดิเคเตอร์อีกสามชนิดไม่เหมาะสมเมื่อพิจารณาช่วงการเปลี่ยนสี ร่วมกับกราฟของการไทเทรต (ไม่แสดงในรายงานนี้) ผลที่ได้รวบรวมในตารางที่ 2

การไทเทรตเบสอ่อนด้วยกรดแก่ โดยมีสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.0 M เป็นตัวไทแทรนต์ปริมาตรที่ใช้เท่ากับ 10.00 mL และมีกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 M เป็นตัวไทแทรนต์ ในระบบนี้จุดสมมูลของการไทเทรตเบสอ่อนด้วยกรดแก่จะมีค่าพีเอชน้อยกว่า 7.00 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.28

อินดิเคเตอร์ที่สามารถบอกจุดยุติสำหรับการไทเทรตเบสอ่อนด้วยกรดแก่ได้คือ สารสกัดจากดอกชบา (20 หยด) ซึ่งจะสังเกตเห็นการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์จากสีแดงเป็นสีเขียวเนื่องจากค่าพีเอชที่จุดสมมูลอยู่ในช่วงการเปลี่ยนสีที่เป็นรูปกรดของอินดิเคเตอร์ และดอกอัญชัน (10 หยด) เนื่องจากค่าพีเอชที่จุดสมมูลอยู่ในช่วงการเปลี่ยนสีที่เป็นรูปเบสของอินดิเคเตอร์ ส่วนสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าไม่เหมาะสมที่จะนำมาไทเทรตเบสอ่อนด้วยกรดแก่ เพราะช่วงการเปลี่ยนสีของสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้ามากกว่า 7.0 ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการบอกจุดยุติ นอกจากนี้สารสกัดจากกะหล่ำปลีม่วงไม่เหมาะสมเมื่อพิจารณาปริมาตรเฉลี่ยของ HCl

ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสารสกัดจากพืช

เมื่อนำสารละลายของดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า ดอกชบา และกะหล่ำปลีม่วง ที่สกัดด้วยสารละลาย Ethanoic HCl ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ณ ความยาวคลื่นที่เหมาะสมของพืชแต่ละชนิด พบว่า สารสกัดจากธรรมชาติมีปริมาณแอนโทไซยานินโดยเฉลี่ยเรียงลำดับจากมากไปหาน้อย เป็นดังนี้ 36.76, 26.68, 25.05 และ 23.01 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของดอกชบา กะหล่ำปลีม่วง ดอกเฟื่องฟ้า และดอกอัญชัน ตามลำดับผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ดอกชบามีแอนโทไซยานินมากที่สุด เมื่อสกัดด้วย Ethanoic HCl

สรุปผลการวิจัย

ดอกไม้และผักที่มีสีน้ำเงิน สีแดง และสีม่วง มีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่แตกต่างกัน และยังสามารถใช้เป็นอินดิเคเตอร์ทดแทนอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ ซึ่งต้องนำเข้าจากต่างประเทศและส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมหากมีการสะสมในธรรมชาติอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นสารสกัดที่มีสีจากพืชธรรมชาติเป็นทางเลือกหนึ่งที่ประหยัด และรักษาสิ่งแวดล้อม เพียงสกัดด้วยน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ดีภายในเวลาครึ่งชั่วโมง และความเข้มข้นของสารละลายอินดิเคเตอร์ธรรมชาติ 1% (w/v) การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากดอกอัญชัน ดอกเฟื่องฟ้า ดอกชบา และกะหล่ำปลีม่วง มีประโยชน์ในการไทเทรตระหว่างกรด-เบสที่ต้องการหาปริมาณโดยปริมาณที่ใช้ไม่เกินหนึ่งมิลลิลิตรสามารถมองเห็นการเปลี่ยนสีที่จุดยุติได้อย่างชัดเจนกรณีที่ต้องการลดปริมาณหยดสำหรับการไทเทรตกรดแก่ด้วยเบสแก่ การไทเทรตกรดอ่อนด้วยเบสแก่ และการไทเทรตเบสอ่อนด้วยกรดแก่ สามารถทำได้โดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติตามสัดส่วนที่ได้จากงานวิจัยนี้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี ที่อำนวยความสะดวกด้านสถานที่และอุปกรณ์วิทยาศาสตร์รวมถึงนักวิทยาศาสตร์ที่ให้คำแนะนำด้านเทคนิคปฏิบัติการในงานวิจัยของนักศึกษา

เอกสารอ้างอิง

กัญทิมา แสงวงศ์. (2551). **การสกัดแอนโทไซยานินจากดอกไม้เพื่อใช้เป็นสารอินดิเคเตอร์**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. (2544). **ข้อมูลพรรณไม้**. จาก http://www.rspg.or.th/plants_data/plantdat/brassica/bolcap_1.htm. เข้าถึงวันที่ 30 กันยายน 2558.

เฉลิมพร ทองพูน และปิยะวัฒน์ ไกรสร. (2258). การใช้สารสกัดจากดอกอัญชันเป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรด-เบส. **Rajabhat Journal of Sciences, Humanities & Social Sciences**, 16(2), 156-166.

ชญานาถ ซ้อนพิมาย. (2550). **การพัฒนากิจกรรมการทดลองเรื่องการทดสอบความเป็นกรด-เบสของสารเคมีในชีวิตประจำวันโดยใช้อินดิเคเตอร์ในท้องถิ่น**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

ชื่นสุมณ ยิ้มถิน และรวมพร เชี่ยวบัญชี. (2557). **รายงานวิจัยเรื่อง การหาปริมาณแอนโทไซยานิน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากดอกเฟื่องฟ้า ชบาแดง และแคแดง**. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.

ปิยะวัฒน์ ไกรสร. (2557). การ**ใช้ประโยชน์จากสารสกัดดอกอัญชันเพื่อใช้เป็นอินดิเคเตอร์กรด-เบส และการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูโดยเทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. (2558). **แอนโทไซยานิน, ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร**. จาก http://www.food networksolution.com/wiki/word/1103/anthocyanin. เข้าถึงวันที่ 30 กันยายน 2558.

วิแทน ปวกพรมมา. (2556). **การศึกษาสมบัติความเป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติของแก่นฝางและดอกหมามุ่ยสำหรับการไทเทรตกรด-เบส**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

สถาบันวิจัยสมุนไพร กระทรวงสาธารณสุข. (2556). **ผักสีสดช่วยคุณฟิตได้ ก้าวทันโลก, ศูนย์ข้อมูลสมุนไพร**. จาก http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_herbal/news_detail.php?cat=G&id=117. เข้าถึงวันที่ 30 กันยายน 2558.

Bondre, S., Patil, P., Kulkarni, A., & Pillai, M.M. (2012). Study on isolation and purification of anthocyanins and its application as pH indicator. **International Journal of Advanced Biotechnology and Research**, 3(3), 689-702.

Castaneda, O.A., Pacheco, H.M.D.L., Paez, H.M.E., Rodriguez, J.A., & Galan, V.C.A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: a review. **Food Chemistry**, 113, 859-871

Gupta, P., Jain, P., & Jain, P.K. (2012). Flower sap: a natural resource as indicator in acidimetry and alkalimetry. **International Journal of Chemical Technology Research**, 4(4), 1619-1622.

Lila, M.A. (2004). Anthocyanins and human health: an in vitro investigative approach. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, 5, 306-313.

Ranganna, S. (1977). **Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Products**. New Delhi: McGraw Hill Publishing.

Suppadit, T., Sunthorn, N., & Poungsuk, P. (2011). Use of anthocyanin extracted from natural plant materials to develop a pH test kit for measuring effluent from animal farms. **African Journal of Biotechnology**, 10(82), 19109-19118.

Ueda, M., Lapanantnoppakhun, S., Wongwilai, W., Teshima, N., Sakai, T., & Grudpan, K. (2010). Exploiting a simple water extract of a flower as a natural reagent for acidity assay using a lab-on-chip. **Journal of Flow Injection Analysis**, 27(1), 57-60.