

## การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการเก็บรักษาสารสกัดจากดอกชบาเพื่อใช้เป็นอินดิเคเตอร์ ธรรมชาติในการไทเทรตกรดแก่-เบสแก่

วนิดา นิลโสม\* และ ธัญกมล ปัทมมณี

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

\*อีเมลผู้ประพันธ์บรรณกิจ: Vanida.Ni@chula.ac.th

### บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการเก็บรักษาสารสกัดจากดอกชบาแดง (*Hibiscus Rosa-sinensis* Linn.) ใน 3 รูปแบบ ได้แก่ สารสกัดเหลวเริ่มต้น (Initial Extract Liquid) สารสกัดเข้มข้นจากการระเหย (Concentrated Extract Liquid) และสารสกัดผงแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-Dried Extract Powder) เพื่อใช้เป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติทดแทนสารสังเคราะห์ในปฏิกิริยาไทเทรตกรดแก่-เบสแก่ โดยพิจารณาความเสถียรของสี ความแม่นยำในการระบุจุดยุติ อายุการเก็บรักษาและความคุ้มค่าเชิงต้นทุน สารสกัดดอกชบาแดงทั้ง 3 รูปแบบถูกนำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีในช่วง pH 1 - 12 และประเมินอายุการเก็บรักษา จากนั้นนำไปใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรดแก่-เบสแก่ เปรียบเทียบกับอินดิเคเตอร์มาตรฐาน โดยพิจารณาค่าปริมาตรที่จุดยุติ ความสามารถในการทำซ้ำและต้นทุนการผลิต ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดผงแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีประสิทธิภาพสูงที่สุด สามารถเก็บรักษาได้อย่างน้อย 11 เดือน ขณะที่สารสกัดเหลวเริ่มต้นมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 1 สัปดาห์ สารสกัดดอกชบาแดงแสดงการเปลี่ยนสีชัดเจนในช่วง pH 5 - 8 ซึ่งเหมาะสมต่อการระบุจุดสมมูลของการไทเทรตกรดแก่-เบสแก่ นอกจากนี้สารสกัดผงแห้งแบบแช่เยือกแข็งยังให้ค่าปริมาตรจุดยุติ ( $10.82 \pm 0.25$  mL) และมีค่า %RSD ต่ำ แสดงถึงความแม่นยำและความสามารถในการทำซ้ำเทียบเคียงอินดิเคเตอร์มาตรฐาน อีกทั้งยังมีต้นทุนต่ำกว่าฟีนอล์ฟทาลีนร้อยละ 50 และต่ำกว่าบรอมไทมอลบลูร้อยละ 67.8 สรุปได้ว่า สารสกัดดอกชบาแดงผงแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีศักยภาพในการเป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติทดแทนสารสังเคราะห์ ช่วยลดการใช้สารเคมีอันตราย ลดต้นทุน และส่งเสริมการใช้ทรัพยากรธรรมชาติตามแนวทางวิทยาศาสตร์เพื่อความยั่งยืน

**คำสำคัญ:** สารสกัดดอกชบาแดง, อินดิเคเตอร์ธรรมชาติ, การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง, การไทเทรตกรดแก่-เบสแก่, อายุการเก็บรักษา

## Study on the Effectiveness of Preservation Methods for Hibiscus Flower Extract Liquid for Use as a Natural Indicator in Strong Acid-Strong Base Titrations

Wanida Nilsom\* and Thankamon Patthummee

Department of chemistry, Faculty of science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok 10330, Thailand

\*Corresponding author's e-mail: Vanida.Ni@chula.ac.th

### Abstract

This study aims to compare the efficiency of three preservation methods for red hibiscus extract (*Hibiscus rosa-sinensis* Linn.)—initial extract liquid, concentrated extract liquid obtained by evaporation, and freeze-dried powder—for use as a natural indicator to replace synthetic dyes in strong acid–strong base titrations. The study investigated their color responses across a pH range of 1–12, storage stability, endpoint detection accuracy, repeatability, and production cost. The results showed that freeze-dried red hibiscus extract was the most effective preservation method, maintaining stability for at least 11 months, whereas the liquid extract remained stable for approximately one week. The extract exhibited a distinct color change in the pH range of 5–8, making it suitable for detecting the equivalence point in strong acid–strong base titrations. Furthermore, the freeze-dried extract produced an endpoint volume of  $10.82 \pm 0.25$  mL with a low relative standard deviation (%RSD), demonstrating accuracy and reproducibility comparable to standard indicators. Its production cost was 50% lower than that of phenolphthalein and 67.8% lower than that of bromothymol blue. These findings indicate that freeze-dried red hibiscus extract has strong potential as a natural alternative to synthetic indicators, offering extended shelf life, reliable analytical performance, reduced chemical costs, and decreased use of hazardous substances while promoting the sustainable utilization of natural resources.

**Keywords:** Red Hibiscus Extract, Natural Indicator, Freeze-Drying, Acid-Base Titration, Storage Stability

## บทนำ

การวิเคราะห์โดยการไทเทรต (Titration Analysis) เป็นเทคนิคที่ใช้หาปริมาณสารโดยอาศัยการวัดปริมาตรของสารละลายที่ทำปฏิกิริยากันพอดี ณ จุดยุติ (End Point) ซึ่งเป็นจุดที่ผู้ทดลองหยุดไทเทรตเมื่อพบการเปลี่ยนแปลงของสารเคมีที่ทำหน้าที่เป็นอินดิเคเตอร์ (Indicator) เช่น การเปลี่ยนสี และการตกตะกอน เป็นต้น โดยที่จุดยุตินี้ต้องให้ผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกับจุดสมมูล (Equivalence Point) ซึ่งเป็นจุดที่สารทำปฏิกิริยากันครบตามสัดส่วนทางเคมี (Stoichiometry) มากที่สุด เพื่อลดความคลาดเคลื่อนของผลการวิเคราะห์ ดังนั้นอินดิเคเตอร์จึงมีบทบาทสำคัญต่อการไทเทรตเป็นอย่างยิ่ง โดยเฉพาะการไทเทรตกรด-เบสแก่ เช่น HCl และ NaOH ซึ่งมีจุดสมมูลอยู่ที่ pH 7 และมีการเปลี่ยนแปลงค่า pH อย่างรวดเร็วในช่วงใกล้จุดสมมูล การเลือกใช้อินดิเคเตอร์ จึงพิจารณาจากช่วง pH ของการเปลี่ยนสี ซึ่งปกติจะอยู่ในช่วง  $\text{pH} = \text{pK}_a \pm 1$  ทำให้เมื่อพิจารณาช่วงการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ จากตารางที่ 1 จะพบว่า ฟีนอล์ฟทาเลอิน (Phenolphthalein) และบรอมไทมอลบลู (Bromothymol Blue) สามารถใช้ระบุจุดยุติได้อย่างมีประสิทธิภาพ (ภาควิชาเคมี, 2568)

ตารางที่ 1 ช่วง pH และการเปลี่ยนสีของกรด-เบสอินดิเคเตอร์มาตรฐานบางชนิด

| อินดิเคเตอร์ (Indicators) | ช่วง pH การเปลี่ยนสี | สีที่เปลี่ยน (จากกรดไปเบส) |
|---------------------------|----------------------|----------------------------|
| Thymol blue (รอบแรก)      | 1.2 - 2.8            | แดง - เหลือง               |
| Methyl orange             | 3.1 - 4.4            | แดง - เหลือง               |
| Bromophenol blue          | 3.0 - 4.6            | เหลือง - น้ำเงิน           |
| Congo red                 | 3.0 - 5.0            | น้ำเงิน - แดง              |
| Bromocresol green         | 3.8 - 5.4            | เหลือง - น้ำเงิน           |
| Methyl red                | 4.4 - 6.2            | แดง - เหลือง               |
| Bromocresol purple        | 5.2 - 6.8            | เหลือง - ม่วง              |
| Alizarin                  | 5.6 - 7.2            | เหลือง - แดง               |
| Bromothymol blue (BB)     | 6.0 - 7.6            | เหลือง - น้ำเงิน           |
| Phenol red                | 6.6 - 8.2            | เหลือง - แดง               |
| Phenolphthalein (PP)      | 8.3 - 10.0           | ไม่มีสี - ชมพู/แดง         |
| Thymol blue (รอบสอง)      | 8.0 - 9.6            | เหลือง - น้ำเงิน           |
| Indigo carmine            | 11.4 - 13.0          | น้ำเงิน - เหลือง           |

แม้ว่าอินดิเคเตอร์สังเคราะห์จะสามารถระบุจุดยุติได้อย่างแม่นยำและให้ผลการทดลองคงที่ แต่สารเคมีเหล่านี้นักวิจัยยังจำกัดด้านต้นทุน การนำเข้าจากต่างประเทศ รวมถึงอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ใช้งานและสิ่งแวดล้อมหากมีการจัดการกากสารเคมีที่ไม่เหมาะสม คณะผู้วิจัยจึงเกิดความสนใจแก้ปัญหาดังกล่าวด้วยการพัฒนาอินดิเคเตอร์จากแหล่งธรรมชาติที่มีความปลอดภัยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับแนวคิดวิทยาศาสตร์อย่างยั่งยืน (Sustainable Science) และเป้าหมายการพัฒนาที่ยั่งยืน (Sustainable Development Goals; SDGs) ที่มุ่งลดการใช้สารเคมีอันตรายและส่งเสริมการใช้ทรัพยากรธรรมชาติอย่าง

พืชหลายชนิดที่มีสารสีในกลุ่มแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) ได้รับความสนใจในการนำมาพัฒนาเป็นอินดิเคเตอร์ ธรรมชาติเนื่องจากแอนโทไซยานินสามารถเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีตามสภาวะกรด-เบส ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนสีที่แตกต่างกันในช่วงค่า pH ต่าง ๆ จึงสามารถประยุกต์ใช้ในการระบุจุดยุติของการไทเทรตได้ โดยแอนโทไซยานินพบได้ในพืชหลายชนิด รวมถึงดอกชบาแดง (*Hibiscus Rosa-sinensis* Linn.) ซึ่งเป็นพืชที่พบได้ทั่วไป มีต้นทุนต่ำ ปลอดภัย และให้การเปลี่ยนสีที่สังเกตได้ชัดเจน จึงมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติสำหรับการเรียนการสอนและงานวิเคราะห์ทางเคมี

การสกัดแอนโทไซยานินจากพืชเป็นขั้นตอนสำคัญที่ส่งผลต่อคุณภาพและประสิทธิภาพของสารสกัด โดยตัวทำละลายที่นิยมใช้ได้แก่ เอทานอล เมทานอล และอะซิโตน (Kähkönen et al., 2001) ซึ่งมีรายงานว่า เอทานอลสามารถสกัดแอนโทไซยานินได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีความปลอดภัยเหมาะสมต่อการประยุกต์ใช้ในงานด้านการศึกษา (Metivier et al., 1980; ทรงศิริ วงศ์จิตตปัญญา

และคณะ, 2552) นอกจากนี้การใช้กรดร่วมกับตัวทำละลายยังได้รับความนิยม เนื่องจากแอนโทไซยานินมีความคงตัวสูงในสภาวะกรด โดยอยู่ใน รูปฟลาวิลเลียมแคทไอออน (Flavylum Cation) (Cacace & Mazza, 2002; Donner et al., 1997; Gradinaru et al., 2003) อย่างไรก็ตามการใช้กรดเกินความเข้มข้นสูงเกินไปอาจก่อให้เกิดการสลายตัวของสารได้ (Bakker & Timberlake, 1985; Revilla et al., 1998) ดังนั้นการเลือกสภาวะการสกัดและวิธีการเตรียมสารสกัดที่เหมาะสมจึงมีความสำคัญต่อการคงสภาพของสารสีและประสิทธิภาพในการนำไปใช้งาน (Chaovanalikit & Wrolstad, 2004; Rodriguez-Saona & Wrolstad, 2001)

แม้ว่างานวิจัยก่อนหน้านี้จะรายงานความเป็นไปได้ในการใช้สารสกัดที่มีแอนโทไซยานินเป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติสำหรับการไทเทรตกรด-เบส แต่ส่วนใหญ่ยังมุ่งเน้นการศึกษาประสิทธิภาพการเปลี่ยนสีหรือความสามารถในการระบุจุดยุติในระยะสั้น ขณะที่ข้อมูลเกี่ยวกับความคงตัว อายุการเก็บรักษา และความคุ้มค่าเชิงเศรษฐศาสตร์ของสารสกัดในรูปแบบการเก็บรักษาที่แตกต่างกันยังมีอยู่อย่างจำกัด โดยเฉพาะสำหรับการประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการการเรียนการสอน ซึ่งต้องคำนึงถึงทั้งประสิทธิภาพ อายุการใช้งาน และต้นทุนการดำเนินงานควบคู่กัน

ด้วยเหตุนี้งานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาและเปรียบเทียบวิธีการเก็บรักษาสารสกัดจากดอกขาแดงในรูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ สารสกัดเหลวเริ่มต้น (Initial Extract Liquid) สารสกัดเข้มข้นจากการระเหย (Concentrated Extract Liquid) และสารสกัดผงแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze-dried Extract Powder) เพื่อประเมินผลต่อความคงตัว ประสิทธิภาพในการระบุจุดยุติของการไทเทรต อายุการเก็บรักษา และต้นทุนการผลิต โดยมีเป้าหมายเพื่อพัฒนาอินดิเคเตอร์ธรรมชาติที่สามารถใช้ทดแทนอินดิเคเตอร์สังเคราะห์ในการเรียนการสอนปฏิบัติการเคมีได้อย่างมีประสิทธิภาพ คุ้มค่า และสอดคล้องกับแนวทางการพัฒนาอย่างยั่งยืน

### วัตถุประสงค์การวิจัย

- 1) เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการเก็บรักษาสารสกัดจากดอกขาแดงในรูปแบบสารสกัดเหลว การทำแห้งโดยการระเหย (Evaporation) และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-drying) ในด้านความเสถียรของสีและความแม่นยำในการแสดงจุดสมมูลของปฏิกิริยาไทเทรตกรด-เบสแก่
- 2) เพื่อศึกษาอายุการใช้งานและความเสถียรในการเก็บรักษาของอินดิเคเตอร์ธรรมชาติจากสารสกัดดอกขาแดงที่เก็บรักษาในรูปแบบของสารสกัดเหลว การทำแห้งโดยการระเหย และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เป็นระยะเวลาไม่น้อยกว่า 6 เดือน
- 3) เพื่อวิเคราะห์ต้นทุนเชิงเศรษฐศาสตร์และประเมินความเป็นไปได้ในการใช้อินดิเคเตอร์ธรรมชาติทดแทนอินดิเคเตอร์สังเคราะห์มาตรฐานในระดับปฏิบัติการที่มีผู้เรียนจำนวนมากของรายวิชาปฏิบัติการเคมีทั่วไป 2 (2302116)

### ระเบียบวิธีวิจัย

#### สารเคมีและอุปกรณ์

- บีกเกอร์ขนาด 50 150 250 600 และ 3,000 มิลลิลิตร
- แท่งแก้วสำหรับคนสาร
- เครื่องกวนแม่เหล็กพร้อมแผ่นให้ความร้อน (Hot Plate Stirrer)
- เครื่องสกัดสารระเหยแบบหมุน Rotary Evaporator
- เครื่องทำให้แห้งด้วยความเย็น Freeze Dryer Systems
- หลอดเซนต์ปีฟส์
- เครื่องชั่งสาร
- ปิเปตขนาด 10.00 mL, บิวเรตขนาด 50.00 mL
- ขวดรูปกรวย, ขาดังและที่จับยึด
- เอทานอล
- น้ำปราศจากไอออน (DI Water)
- สารละลายบัฟเฟอร์ pH 1 - 12
- สารละลายมาตรฐานทิตริยมโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นที่แน่นอนได้จากผลจากที่ขวดบรรจุ (0.1xx M)

- สารละลายตัวอย่างกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้นโดยประมาณ 0.1 M
- สารละลายอินดิเคเตอร์สารสกัดจากขบา บรอมโทมอลบลู และฟีนอล์ฟทาลีน

### 1) การเตรียมสารสกัดดอกขบาแดงในรูปแบบต่าง ๆ

ทำการเตรียมสารสกัดจากกลีบดอกขบาแดงโดยใช้ระบบตัวทำละลายผสม เอทานอล-น้ำ และนำมาแปรรูปเป็น 3 รูปแบบดังนี้ (เตรียมเมื่อวันที่ 12 กุมภาพันธ์ 2568)

(1.1) สารสกัดเหลวเริ่มต้น (RB-L): นำกลีบดอกขบาแดงสด จำนวน 500 g ไปสกัดด้วยตัวทำละลายผสมเอทานอล-น้ำ (อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร) ปริมาตร 1,000 mL โดยเก็บไว้ทดสอบในชั้นถัดไป จำนวน 30 mL

(1.2) สารสกัดเข้มข้นด้วยการระเหย (RB-E): นำสารสกัดเหลวเริ่มต้นส่วนที่เหลือ (970 mL) มาระเหยตัวทำละลายออกจนปริมาตรลดลงเหลือ 250 mL โดยเก็บไว้ทดสอบในชั้นถัดไป จำนวน 150 mL

(1.3) สารสกัดผงแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (RB-F): นำสารสกัดเข้มข้นที่เหลือ (100 mL) มาระเหยต่อจนเหลือเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำประมาณ 50 mL จากนั้นนำไปแช่เยือกแข็ง แล้วเข้าเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-dryer) จนกระทั่งน้ำระเหิดออกหมด ได้ผลิตภัณฑ์เป็นผงแห้งสีแดงเข้ม น้ำหนักประมาณ 4 g

### 2) การทดสอบคุณสมบัติการเปลี่ยนสีตามค่า pH

นำสารสกัดแต่ละรูปแบบมาทดสอบการเปลี่ยนสีในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่า pH ตั้งแต่ 1 ถึง 12 เพื่อบันทึกช่วง pH ที่เกิดการเปลี่ยนสีที่เด่นชัดด้วยตาเปล่าและเปรียบเทียบความคมชัดของแต่ละรูปแบบ โดยหยดสารละลายของสารสกัดทั้ง 3 รูปแบบที่มีความเข้มข้นใกล้เคียงกัน (ประมาณ 2% w/v) จำนวน 3 หยด ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ 7 mL ที่บรรจุอยู่ในหลอดทดลองขนาด 10 mL

### 3) การทดลองไทเทรตกรด-เบสแก่

ดำเนินกระบวนการไทเทรตตามขั้นตอนมาตรฐานในห้องปฏิบัติการเคมี ดังนี้

(3.1) เตรียมบิวเรตและบรรจุสารละลายมาตรฐานทิตริยมิ NaOH

(3.2) ใช้ปิเปตตวงสารละลายปริเคาะห์ HCl (Unknown) ปริมาตร 10.00 mL ใส่ลงในขวดรูปชมพู่

(3.3) หยดอินดิเคเตอร์จากดอกขบาแดง จำนวน 2 - 3 หยด บันทึกสีเริ่มต้น

(3.4) ทำการไทเทรตโดยปล่อยสารละลาย NaOH จากบิวเรตอย่างช้า ๆ พร้อมเขย่าขวดรูปชมพู่ จนกระทั่งสารละลายเกิดการเปลี่ยนสีอย่างถาวร (จุดยุติ)

(3.5) บันทึกปริมาตรจุดยุติ คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลาย HCl และทำการทดลองซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้งเพื่อหาค่าสถิติความแม่นยำ

(3.6) ทำการทดลองเปรียบเทียบ โดยเปลี่ยนอินดิเคเตอร์จากดอกขบาแดงเป็นอินดิเคเตอร์มาตรฐานฟีนอล์ฟทาลีนและ บรอมโทมอลบลู

### 4) การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตเชิงเศรษฐศาสตร์

ในการวิเคราะห์ต้นทุน ได้กำหนดให้อินดิเคเตอร์ทุกชนิดอยู่ในรูปสารละลายพร้อมใช้งาน (Working Solution) ปริมาตร 500 mL โดยมีการเตรียมดังนี้: สารสกัดดอกขบาแดงจาก RB-F เตรียมโดยการชั่ง 2 g ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 100 mL ให้ได้ความเข้มข้น 2% w/v จากนั้นใช้เป็นสารละลายอินดิเคเตอร์โดยไม่ผ่านการเจือจางเพิ่มเติม ขณะที่ฟีนอล์ฟทาลีนและบรอมโทมอลบลูเตรียมเป็นสารละลายพร้อมใช้งานที่มีความเข้มข้น 0.1% (w/v) ตามวิธีปฏิบัติในห้องปฏิบัติการ ก่อนนำมาใช้ในการเปรียบเทียบต้นทุนภายใต้เงื่อนไขการใช้งานเดียวกัน

## ผลการวิจัย

### 1) ผลการเปรียบเทียบอายุการเก็บรักษาของสารสกัดดอกขบาแดง

จากการเก็บรักษาและตรวจสอบประสิทธิภาพของสารสกัดดอกขบาแดงทั้ง 3 รูปแบบในระยะยาว ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการเปรียบเทียบอายุการเก็บรักษาและประสิทธิภาพของสารสกัดขบาแดงในรูปแบบต่าง ๆ

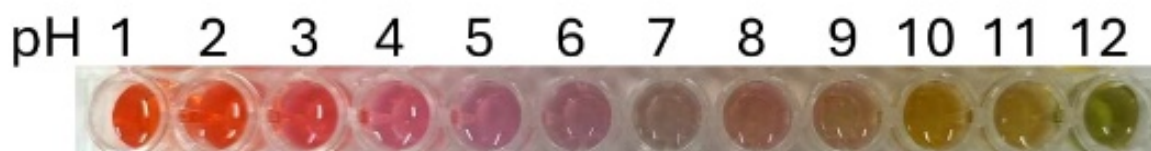
| รูปแบบสารสกัด                     | อายุการเก็บรักษา*  | ประสิทธิภาพและความคงตัวหลังการเก็บรักษา                                                                  |
|-----------------------------------|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| สารสกัดเหลวเริ่มต้น (RB-L)        | ~ 1 สัปดาห์        | ความเข้มข้นของสีลดลงอย่างรวดเร็ว ความชัดเจนของจุดเปลี่ยนสีลดลงอย่างมีนัยสำคัญเนื่องจากการย่อยสลายทางเคมี |
| สารสกัดเข้มข้นด้วยการระเหย (RB-E) | 6 - 8 เดือน        | สามารถนำมาละลายใหม่ได้สีเข้ม สังเกตการเปลี่ยนสีได้ชัดเจน ให้ผลใกล้เคียงอินดิเคเตอร์มาตรฐาน               |
| สารสกัดผงแห้งแบบเยือกแข็ง (RB-F)  | อย่างน้อย 11 เดือน | คงสภาพทางเคมีได้ดีเยี่ยม ละลายน้ำได้ง่าย ให้สีเข้มสดใส สังเกตจุดเปลี่ยนสีได้คมชัดและแม่นยำสูง            |

\*หมายเหตุ: การเก็บรักษา การศึกษาความคงตัว และอายุการเก็บรักษาของสารสกัดดอกขบาแดงดำเนินการโดยเก็บตัวอย่างในภาชนะปิดสนิท และเก็บรักษาในตู้เย็นช่องแช่เย็น (Refrigerator Compartment) ที่อุณหภูมิประมาณ  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  ภายใต้สภาวะมืด (หลีกเลี่ยงแสง) เพื่อควบคุมผลกระทบจากแสงและอุณหภูมิ จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงของสีและประสิทธิภาพการเป็นอินดิเคเตอร์เป็นระยะเวลาที่กำหนด

จากตารางที่ 2 พบว่า สารสกัดผงแห้งแบบเยือกแข็ง (RB-F) มีความคงตัวและอายุการเก็บรักษาสูงที่สุด ( $\geq 11$  เดือน) รองลงมาคือ สารสกัดเข้มข้นด้วยการระเหย (RB-E) ที่มีอายุการเก็บรักษา 6 - 8 เดือน ขณะที่สารสกัดเหลวเริ่มต้น (RB-L) มีอายุการเก็บรักษาสั้นที่สุดเพียงประมาณ 1 สัปดาห์ แสดงให้เห็นว่าการทำแห้งแบบเยือกแข็งช่วยเพิ่มความคงตัวและยืดอายุการเก็บรักษาของสารสกัดได้ดีกว่าวิธีอื่น

### 2) ผลการทดสอบการเปลี่ยนสีในช่วงค่า pH ต่าง ๆ

จากการทดสอบสารสกัดดอกขบาแดงในช่วง pH 1 - 12 พบว่าสารสกัดมีพฤติกรรมการเปลี่ยนสีตามสภาวะความเป็นกรด-เบสอย่างเด่นชัด โดยในช่วง pH 5 - 8 จะเกิดการเปลี่ยนสีจากโทนสีแดง/ชมพูไปเป็นเขียวดังภาพที่ 1 ซึ่งเป็นช่วง pH ที่ครอบคลุมและเหมาะสมสำหรับการระบุจุดสมมูลของการไทเทรตระหว่างกรดแก่และเบสแก่พอดี



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนสีของสารสกัดขบาใน ช่วง pH 1 - 12

### 3) ผลการทดลองไทเทรตจริงในห้องปฏิบัติการขนาดใหญ่

ค่าเฉลี่ย (Mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และส่วนเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (%RSD) คำนวณจากค่าปริมาตร NaOH ณ จุดยุติของการไทเทรตที่ได้จากนิตราวิทยานิพนธ์การเคมีทั่วไป 2 (2302116) คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภาควิชาเคมี ปีการศึกษา 2568 จำนวน 557 คน โดยนิตทุกคนทำการไทเทรตโดยใช้อินดิเคเตอร์ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดดอกขบาแดง ฟีนอล์ฟทาลีน และบรอม

ไทมอลบลู จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ย (Mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ซึ่งแสดงการกระจายของข้อมูล และส่วนเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (%RSD) ซึ่งคำนวณจากอัตราส่วนระหว่าง SD ต่อค่าเฉลี่ย เพื่อใช้ประเมินความแม่นยำและความสามารถในการทำซ้ำของผลการทดลอง ดังตารางที่ 3

**ตารางที่ 3** สถิติเปรียบเทียบปริมาตรจุดยุติจากการไทเทรตกรดแก่-เบสแก่ โดยใช้สินิตจำนวน 557 คน\*\*

| ชนิดอินดิเคเตอร์      | ปริมาตรเฉลี่ยของ NaOH (mL) | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) | ส่วนเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (%RSD) |
|-----------------------|----------------------------|---------------------------|------------------------------|
| สารสกัดดอกชบาแดง (RB) | 10.82                      | 0.25                      | 2.32%                        |
| ฟีนอล์ฟทาลีน (PP)     | 10.82                      | 0.24                      | 2.23%                        |
| บรอมไทมอลบลู (BB)     | 10.80                      | 0.53                      | 4.94%                        |

\*\*หมายเหตุ: ข้อมูลวิเคราะห์จากชุดข้อมูลดิบระบบจัดเก็บสถิติปฏิบัติการ (ผลชบา-68.xlsx)

ตารางที่ 3 แสดงผลการเปรียบเทียบปริมาตร NaOH ณ จุดยุติของการไทเทรตกรด-เบสจากผู้เรียนจำนวน 557 คน โดยใช้อินดิเคเตอร์ 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดดอกชบาแดง (RB) ฟีนอล์ฟทาลีน (PP) และบรอมไทมอลบลู (BB) พบว่า สารสกัดดอกชบาแดงและฟีนอล์ฟทาลีนให้ปริมาตรเฉลี่ยของ NaOH เท่ากันที่ 10.82 mL โดยมีค่า SD เท่ากับ 0.25 และ 0.24 mL และมีค่า %RSD เท่ากับ 2.32 และ 2.23 ตามลำดับ ขณะที่บรอมไทมอลบลูให้ปริมาตรเฉลี่ย 10.80 mL มีค่า SD เท่ากับ 0.53 mL และ %RSD เท่ากับ 4.94 ซึ่งสูงกว่าสารสกัดดอกชบาแดงและฟีนอล์ฟทาลีน แสดงให้เห็นว่าผลการไทเทรตมีความแปรปรวนมากกว่า แม้ว่าปริมาตรเฉลี่ยของ NaOH ที่ใช้ในการไทเทรตของทั้งสามอินดิเคเตอร์จะมีค่าใกล้เคียงกันก็ตาม

**ตารางที่ 4** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) ของปริมาตร NaOH ณ จุดยุติของการไทเทรตระหว่างอินดิเคเตอร์ทั้ง 3 ชนิด

| แหล่งความแปรปรวน | SS     | df   | MS   | F    | p-value |
|------------------|--------|------|------|------|---------|
| ระหว่างกลุ่ม     | 0.12   | 2    | 0.06 | 0.43 | 0.65    |
| ภายในกลุ่ม       | 225.61 | 1668 | 0.14 |      |         |
| รวม              | 225.73 | 1670 |      |      |         |

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) ของปริมาตร NaOH ณ จุดยุติของการไทเทรตระหว่างอินดิเคเตอร์ทั้ง 3 ชนิด แสดงดังตารางที่ 4 พบว่า ค่า F เท่ากับ 0.43 และค่า p-value เท่ากับ 0.65 ซึ่งมากกว่าระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 แสดงให้เห็นว่าปริมาตร NaOH ณ จุดยุติของการไทเทรตระหว่างสารสกัดดอกชบาแดง ฟีนอล์ฟทาลีน และบรอมไทมอลบลู ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

#### 4) ผลการวิเคราะห์และเปรียบเทียบต้นทุนการผลิต

จากการคำนวณต้นทุนในกระบวนการผลิตสารสกัดดอกชบาแดง นำมาเปรียบเทียบกับราคาเฉลี่ยของอินดิเคเตอร์มาตรฐานทางการค้าในปริมาณพร้อมใช้งานที่เท่ากัน (100 mL) ได้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 5

**ตารางที่ 5** การเปรียบเทียบต้นทุนของการผลิตอินดิเคเตอร์จากดอกขบาแดงกับอินดิเคเตอร์มาตรฐาน ต่อ 0.1% w/v ปริมาตร 500 mL)

| ชนิดอินดิเคเตอร์                  | ต้นทุน/ราคาเฉลี่ย (บาท) | อายุการใช้งานที่คุ้มค่า | หมายเหตุ / ปัจจัยหลักของต้นทุน                                             |
|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| สารสกัดเหลวเริ่มต้น (RB-L)        | 75.00                   | ~ 1 สัปดาห์             | ต้นทุนสารเคมีต่ำ แต่ไม่คุ้มค่าในระยะยาว เนื่องจากเสถียร                    |
| สารสกัดเข้มข้นด้วยการระเหย (RB-E) | 150.00                  | 6 - 8 เดือน             | มีค่าใช้จ่ายด้านพลังงานสำหรับการระเหยตัวทำละลาย แต่ช่วยยืดอายุการเก็บรักษา |
| สารสกัดผงแห้งแบบเยือกแข็ง (RB-F): | 225.00                  | > 11 เดือน              | มีค่ากระแสไฟฟ้าของเครื่อง Freeze-dryer แต่คุ้มค่าสูงมากในการเก็บ           |
| ฟีนอล์ฟทาลีน (PP)                 | 450.00                  | > 12 เดือน              | ราคานำเข้าสารเคมีเกรดวิเคราะห์ จากต่างประเทศ                               |
| บรอมไทมอลบลู (BB)                 | 700.00                  | > 12 เดือน              | ราคาสูงเนื่องจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีซับซ้อน                          |

จากตารางที่ 5 พบว่า สารสกัดขบาแดงแบบเหลว (RB-L) มีต้นทุนการผลิตต่ำที่สุด เท่ากับ 75 บาทต่อสารละลายอินดิเคเตอร์ 500 mL แต่มีอายุการใช้งานเพียงประมาณ 1 สัปดาห์ ขณะที่สารสกัดขบาแดงแบบแช่เยือกแข็ง (RB-F) มีต้นทุนการผลิต 225 บาท และสามารถเก็บรักษาได้มากกว่า 11 เดือน สำหรับอินดิเคเตอร์มาตรฐาน ฟีนอล์ฟทาลีน (PP) และบรอมไทมอลบลู (BB) มีต้นทุนเฉลี่ย 450 และ 700 บาท ตามลำดับ โดยทั้งสองชนิดมีอายุการใช้งานมากกว่า 12 เดือน

### สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษาพบว่า วิธีการเก็บรักษาสารสกัดจากดอกขบาแดงมีความคงตัวของสารสีแอนโทไซยานิน อายุการเก็บรักษาและประสิทธิภาพในการใช้เป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติสำหรับการไทเทรตกรดแอส-เบสแก่ โดยสารสกัดผงแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (RB-F) ให้ผลดีที่สุด สามารถเก็บรักษาได้น้อย 11 เดือน ขณะที่สารสกัดเข้มข้นด้วยการระเหย (RB-E) มีอายุการเก็บรักษา 6 - 8 เดือน และสารสกัดเหลวเริ่มต้น (RB-L) มีอายุการเก็บรักษาประมาณ 1 สัปดาห์

สารสกัดดอกขบาแดงแสดงการเปลี่ยนสีอย่างชัดเจนในช่วง pH 5 - 8 ซึ่งสอดคล้องกับหลักการของสารแอนโทไซยานินที่สามารถเปลี่ยนโครงสร้างโมเลกุลตามสภาวะกรด-เบส ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนสีในช่วงค่า pH ที่แตกต่างกัน จึงสามารถประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์สำหรับการไทเทรตกรดแอส-เบสแก่ได้อย่างเหมาะสม

ผลการไทเทรตพบว่า สารสกัดจากดอกขบาแดงให้ค่าปริมาตรจุดยุติเฉลี่ย  $10.82 \pm 0.25$  mL และมีค่า %RSD เท่ากับ 2.32% ซึ่งใกล้เคียงกับฟีนอล์ฟทาลีนและดีกว่าบรอมไทมอลบลู แสดงให้เห็นว่าสามารถให้ความแม่นยำและความสามารถในการทำซ้ำได้ในระดับเดียวกับอินดิเคเตอร์มาตรฐาน ผลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ระบุว่าสารสีแอนโทไซยานินจากพืชสามารถใช้เป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติได้อย่างมีประสิทธิภาพ หากมีการเตรียมและเก็บรักษาอย่างเหมาะสม

ในด้านเศรษฐศาสตร์ สารสกัดผงแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าฟีนอล์ฟทาลีนประมาณร้อยละ 50 และต่ำกว่าบรอมไทมอลบลูประมาณร้อยละ 67.8 ขณะเดียวกันยังช่วยลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์และลดปริมาณกากสารเคมีอันตราย จึงสอดคล้องกับแนวคิดวิทยาศาสตร์เพื่อความยั่งยืน (Sustainable Science) และเป้าหมายการพัฒนาที่ยั่งยืน (SDGs)

โดยสรุป สารสกัดดอกขบาแดงในรูปผงแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีศักยภาพสูงในการใช้เป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติทดแทนอินดิเคเตอร์สังเคราะห์สำหรับการเรียนการสอนปฏิบัติการเคมี เนื่องจากมีความแม่นยำ ความคงตัว อายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน และมีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์

## อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดดอกขบาแดงสามารถใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรดแอก-เบสแก่ได้ โดยให้จุดยุติที่ใกล้เคียงกับฟีนอล์ฟทาไลน์ ผลดังกล่าวสอดคล้องกับทฤษฎีของ Rodriguez-Saona and Wrolstad (2001) ที่อธิบายว่าแอนโทไซยานินสามารถเปลี่ยนโครงสร้างโมเลกุลตามค่า pH ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีอย่างชัดเจน จึงมีศักยภาพในการใช้เป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติ

นอกจากนี้ ผลการศึกษายังสอดคล้องกับ Chaovanalikit and Wrolstad (2004) ซึ่งรายงานว่าแอนโทไซยานินจากพืชมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH และสามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมีได้ ขณะที่ Donner et al. (1997) พบว่าสารแอนโทไซยานินจากพืชหลายชนิดมีรูปแบบการเปลี่ยนสีตามค่า pH ที่คล้ายคลึงกัน แสดงให้เห็นว่าคุณสมบัติการเปลี่ยนสีของดอกขบาแดงที่พบในการศึกษานี้เป็นไปตามพฤติกรรมของแอนโทไซยานินที่มีรายงานไว้ก่อนแล้ว

ในด้านความคงตัว ผลการศึกษพบว่าสารสกัดที่ผ่านการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็งมีอายุการเก็บรักษานานกว่าสารสกัดในรูปของเหลว ซึ่งสอดคล้องกับ Gradinaru et al. (2003) ที่รายงานว่าความร้อนและความชื้นเป็นปัจจัยสำคัญที่เร่งการสลายตัวของแอนโทไซยานิน การลดปริมาณน้ำด้วยวิธีแช่เยือกแข็งจึงช่วยรักษาโครงสร้างและความคงตัวของสารสีได้ดี นอกจากนี้ Kähkönen et al. (2001) ยังอธิบายว่าสารประกอบฟีนอลิกมีความไวต่อการเกิดออกซิเดชัน การลดการสัมผัสออกซิเจนระหว่างการเก็บรักษาจึงช่วยชะลอการเสื่อมสภาพของสารได้

ผลการศึกษาครั้งนี้ยังสนับสนุนแนวคิด Green Chemistry ซึ่งส่งเสริมการใช้สารจากธรรมชาติทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ เพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและลดของเสียจากห้องปฏิบัติการ ดังนั้น สารสกัดดอกขบาแดงจึงมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติสำหรับการเรียนการสอนและงานวิเคราะห์ทางเคมีในอนาคต

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สนับสนุนโดย ทุนวิจัยสำหรับบุคลากรสายสนับสนุน กองทุนเพื่อการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## เอกสารอ้างอิง

- ทรงศิริ วงศ์จิตตปัญญา, ชินตา โชติรสเวทิน, และ ศศิธร ตรงจิตภักดี. (2552). ผลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้สกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด แอนโทไซยานินทั้งหมด และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกและเมล็ดองุ่น (น. 760-767). ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. (2568). หนังสือปฏิบัติการเคมีทั่วไป 2 [เอกสารประกอบการสอน]. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Bakker, J., & Timberlake, C. F. (1985). The distribution and content of anthocyanins in young port wines as determined by high performance liquid chromatography. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36(12), 1325-1333.
- Cacace, J. E., & Mazza, G. (2002). Extraction of anthocyanins and other phenolics from black currants with sulfured water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 5939-5946. <https://doi.org/10.1021/jf025614x>
- Chaovanalikit, A., & Wrolstad, R. E. (2004). Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *Journal of Food Science*, 69(1), FCT67-FCT72. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb17858.x>
- Donner, H., Gao, L., & Mazza, G. (1997). Separation and characterization of simple and malonylated anthocyanins in red onions, *Allium cepa* L. *Food Research International*, 30(8), 637-643. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(98\)00011-8](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(98)00011-8)
- Gradinaru, G., Biliaderis, C. G., Kallithraka, S., Kefalas, P., & Garcia-Viguera, C. (2003). Thermal stability of *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins in solution and in solid state: Effects of copigmentation and glass transition. *Food Chemistry*, 83(3), 423-436. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00125-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00125-0)

- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., & Heinonen, M. (2001). Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8), 4076-4082. <https://doi.org/10.1021/jf010152t>
- Metivier, R. P., Francis, F. J., & Clydesdale, F. M. (1980). Solvent extraction of anthocyanins from wine pomace. *Journal of Food Science*, 45(4), 1099-1100. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb07534.x>
- Revilla, E., Ryan, J.-M., & Martin-Ortega, G. (1998). Comparison of several procedures used for the extraction of anthocyanins from red grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(11), 4592-4597. <https://doi.org/10.1021/jf9804692>
- Rodriguez-Saona, L. E., & Wrolstad, R. E. (2001). Extraction, isolation, and purification of anthocyanins. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1), F1.1.1-F1.1.11. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0101s00>