

## การไทเทรตกรด-เบสบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐาน กระดาษ (ไมโครแพด) โดยใช้อินดิเคเตอร์ธรรมชาติ

ภัทรารวรรณ ศุภเลิศ<sup>1</sup> รัฐพล มีลากสม<sup>2</sup> อัครพงศ์ ประกอบกิจ<sup>3</sup>  
ศักดิ์ศรี สุภาธร<sup>1,3</sup> และปริม จารุจรัส<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อุดรราชธานี 34190; <sup>2</sup>สาขาวิชา  
วิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสุขภาพ มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ กาฬสินธุ์ 46000; <sup>3</sup>ภาควิชา  
เคมี และศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อุดรราชธานี 34190

\*E-mail: purim.j@ubu.ac.th

รับบทความ: 11 มกราคม 2564 แก้ไขบทความ: 26 มีนาคม 2564 ยอมรับตีพิมพ์: 1 มิถุนายน 2564

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้มีการสร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ (ไมโครแพด) ด้วยเทคนิคการพิมพ์สกรีนด้วยไขเพื่อสร้างช่องรองรับการเกิดปฏิกิริยา และใช้ไมโครแพดในการไทเทรตกรด-เบสโดยมีอินดิเคเตอร์ธรรมชาติเป็นแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากดอกฟ้าประทานพร โดยอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นสามารถระบุจุดยุติของการไทเทรตด้วยการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์ที่เกิดขึ้นด้วยตาเปล่า นอกจากนี้ยังมีการทดสอบความถูกต้องของอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นโดยการตรวจวัดปริมาณของกรดในตัวอย่างจริง ได้แก่ น้ำยาล้างห้องน้ำ และน้ำส้มสายชู อุปกรณ์การไทเทรตกรด-เบสที่สร้างขึ้นนี้มีจุดเด่นเมื่อเทียบกับวิธีการไทเทรตแบบมาตรฐาน ได้แก่ ต้นทุนต่ำ ใช้สารเคมีน้อยในระดับไมโครลิตร ใช้งานง่าย พกพาสะดวก และสอดคล้องตามหลักการ “เคมีสีเขียว” อีกทั้งยังให้ประสิทธิภาพและผลการทดลองเทียบเท่ากับการไทเทรตกรด-เบสแบบดั้งเดิม นอกจากนี้ อุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นสามารถเป็นอุปกรณ์ทางเลือกเพื่อใช้เป็นชุดทดลองในวิชาเคมีในการจัดการเรียนรู้เพื่อความรู้ความเข้าใจในเรื่องการไทเทรต

**คำสำคัญ:** การไทเทรตกรด-เบส อินดิเคเตอร์ธรรมชาติ อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐาน  
กระดาษ ไมโครแพด เคมีสีเขียว ดอกฟ้าประทานพร

## Acid–Base Titration Based on Microfluidic Paper–Based Analytical Device ( $\mu$ PAD) Using Natural Indicator

Phattaravan Supalert<sup>1</sup>, Rattapol Meelapsom<sup>2</sup>, Akarapong Prakobkij<sup>3</sup>,  
Saksri Supasorn<sup>1,3</sup> and Purim Jarujamrus<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Science Education Program, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani, 34190, Thailand; <sup>2</sup>Department of Science and Mathematics, Faculty of Science and Health Technology, Kalasin University, Kalasin, 46000, Thailand; <sup>3</sup>Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani, 34190, Thailand

\*E-mail: purim.j@ubu.ac.th

Received: 11 January 2021 Revised: 26 March 2021 Accepted: 1 June 2021

### Abstract

This study aimed to develop a microfluidic paper–based analytical device ( $\mu$ PAD) which was fabricated by using a wax screen–printing technique for acid–base titration. Anthocyanins extracted from *Ruellias tuberosa* L. flower was used as a natural indicator for acid–base titration. Our developed method can estimate the endpoint of acid–base titration by observing the color change of the indicator with the naked eye. Furthermore, a real sample application (bathroom cleaner, vinegar) was also investigated to ensure the accuracy of this developed method. This  $\mu$ PAD provides many advantages such as low–cost, low chemical volume (microliter), easy to use, and portable which is following “Green Chemistry” principles. Besides, the performance of this developed method was agreed well with conventional acid–base titration. Besides, this developed device can be used as an experimental kit in a classroom for understanding the concept of titration.

**Keywords:** Acid–base titration, Natural indicator, Microfluidic paper–based analytical device,  $\mu$ PAD, Green–chemistry, *Ruellias tuberosa* L. flower

### บทนำ

การไทเทรตกรด–เบสเป็นกระบวนการหาปริมาณของสารโดยใช้วิธีการนำสารละลายมาตรฐานที่ทราบค่าความเข้มข้นที่แน่นอนทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างจนทำปฏิกิริยากันพอดี

โดยมีหลักการคือเมื่อกรดและเบสทำปฏิกิริยากันจะทำให้ค่า pH เปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณของสารที่ทำปฏิกิริยากัน อินดิเคเตอร์ (indicator) ซึ่งตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH จะเกิดการเปลี่ยนสีทำให้ทราบจุดยุติ โดยสารมาตรฐานที่ทราบ

ความเข้มข้นแน่นอนอยู่ในบิวเรตต์ เรียกว่า ไทแทนท์ (titrant) และสารที่ต้องการทราบความเข้มข้นจะอยู่ในขวดรูปชมพู่ เรียกว่า ไทแทรนด์ (titrand) นำผลการทดลองที่ได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่เราต้องการศึกษาได้โดยตรง (Namwong *et al.*, 2018) ซึ่งพบว่าเทคนิคมาตรฐานในการไทเทรตกรดเบสนั้นยังมีข้อจำกัดอยู่เช่น ใช้สารเคมีปริมาณมาก ต้องมีความชำนาญในการทดลอง และใช้เวลานานในการวิเคราะห์ (Din-a *et al.*, 2016; Lertsuwunpaisal *et al.*, 2016) เนื่องจากข้อจำกัดเหล่านี้จึงได้มีงานวิจัยที่จะพัฒนาเทคนิคทางเลือกใหม่มาใช้แทนวิธีมาตรฐาน

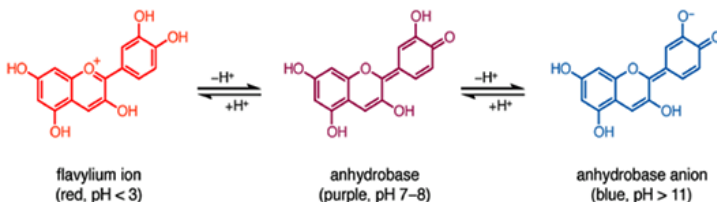
วิธีการหนึ่งที่ได้รับการสนใจในปัจจุบันคืออุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ (microfluidic paper-based analytical device;  $\mu$ PAD) ซึ่งการใช้  $\mu$ PAD มีจุดเด่นกว่าการไทเทรตด้วยวิธีมาตรฐานในแง่ของ ต้นทุนต่ำ รวดเร็ว พกพาได้ ใช้สารเคมีปริมาณที่น้อยมากก่อให้เกิดของเสียที่น้อยลง โดย Karita and Kaneta (2014) ได้เสนอการไทเทรตกรด-เบสบน  $\mu$ PAD ที่สร้างด้วยเทคนิคการพิมพ์ด้วยไข (wax printing) เป็นครั้งแรก Taghizadeh-Behbahani *et al.* (2018) ได้สร้าง  $\mu$ PAD ด้วยเทคนิคการจุ่มลงในไข (wax dipping) สำหรับอธิบายเรื่องค่าคงที่การแตกตัวของกรด ( $K_a$ ) นอกจากนี้ Nogueira *et al.* (2017) ได้เสนอวิธีการไทเทรตกรด-เบสบน  $\mu$ PAD โดยใช้อินดิเคเตอร์ธรรมชาติที่ได้จากสารสกัดจากเปลือกองุ่น Namwong *et al.* (2018) ได้เสนออุปกรณ์ชุดสาริตการทดลองกรด-เบส: เรื่องสารกำหนดปฏิบัติการ โดยเลือกใช้ปฏิบัติการระหว่างโซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) กับกรดแอสซิติค ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) และใช้ฟีนอล์ฟทาเลอินเป็นอินดิเค-

เตอร์ และ Teprek *et al.* (2020) ได้นำเสนอการไทเทรตเชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantitative) โดยอาศัยการนับจุดบนอุปกรณ์ตรวจวัดที่ประดิษฐ์มาจากกระดาษร่วมกับการนับ (spot counting on origami paper-based device; SC-PAD) ด้วยเทคนิคการพิมพ์ด้วยไข ในการตรวจวัดโดยใช้ปฏิบัติการของการไทเทรตกรด-เบส การไทเทรตสารประกอบเชิงซ้อน การไทเทรตการตกตะกอน และการไทเทรตรีดอกซ์ โดยเทคนิคที่กล่าวมาข้างต้นนั้นมีการใช้อินดิเคเตอร์ทั่วไปในการสังเกตการเปลี่ยนแปลงไปของปฏิบัติการ ซึ่งพบว่าอินดิเคเตอร์เหล่านั้นมีข้อจำกัดเช่น ความเป็นพิษ ต้องละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ มีราคาแพง

นอกจากนี้การเลือกใช้อินดิเคเตอร์ให้เหมาะสมก็เป็นสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง โดยอินดิเคเตอร์ที่เลือกใช้ควรมีช่วงในการเปลี่ยนแปลงของสีครอบคลุมค่า pH ที่จุดสมมูลของกรด-เบสคู่หนึ่งๆ และควรสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงของสีได้อย่างชัดเจน โดยอินดิเคเตอร์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายได้มาจากการสังเคราะห์ซึ่งสามารถหาซื้อได้ทั่วไป แต่พบว่ามีราคาค่อนข้างสูงและอินดิเคเตอร์บางชนิดมีความเป็นพิษ ดังนั้นจึงมีกลุ่มนักวิจัยที่สนใจพัฒนาอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติซึ่งหาได้ทั่วไปในท้องถิ่น เช่น ดอกกุหลาบ (Vankar and Bajpai, 2010) ดอกอัญชัน (Suppadit *et al.*, 2011; Thongpoon and Kraison, 2015; Wongchuphan *et al.*, 2016) ดอกเฟื่องฟ้า (Wongchuphan *et al.*, 2016) ดอกชบา (Gupta *et al.*, 2012; Wongchuphan *et al.*, 2016) ดอกว่านสีทิศ (Byamukama *et al.*, 2016) และดอกกล้วยไม้บางชนิด (Sukaram *et al.*, 2020) เนื่องจากในดอกไม้เหล่านี้มีสารประกอบทางเคมีที่เรียกว่า แอนโทไซยานิน (anthocyanins) ซึ่ง

เป็นรงควัตถุหรือสารสี (pigment) ที่ให้สีแดง ม่วง และน้ำเงิน โดยเป็นสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) มีโครงสร้างและสีที่แตกต่างกันไปที่ pH ต่าง ๆ ดังในภาพที่ 1 และเป็นอนุพันธ์ของ polyhydroxy และ polymethoxy ของสาร flavylium หรือ 2-phenylbenzopyrylium ซึ่ง

แอนโทไซยานินที่พบบอกมากในปัจจุบันจะมีอยู่ 6 ชนิด คือ เพลาร์โกนิน (pelargonidin) ไชยานิน (cyanidin) เดลฟินิดิน (delphinidin) พีโอนิน (peonidin) เพทูนิน (petunidin) และมอลวิดิดิน (malvidin) (Castaneda–Ovando *et al.*, 2009)



ภาพที่ 1 โครงสร้างของแอนโทไซยานินที่ pH ต่างกัน

ที่มา: Garber, Odendaal and Carlson, 2013

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาอุปกรณ์การไทเทรตกรด-เบสบน  $\mu$ PAD ที่สร้างช่องทางการไหลด้วยเทคนิคการพิมพ์สกรีนด้วยไข (solid wax screen-printing technique) ซึ่งมีข้อดีเมื่อเทียบกับเทคนิคการสร้างอื่น ๆ เช่น ง่ายในการออกแบบและสร้างแม่พิมพ์ อุปกรณ์ที่ใช้ในการสร้างชิ้นงานมีราคาถูก ไขมีราคาถูกเมื่อเทียบกับสารไม่ชอบน้ำชนิดอื่น และไม่ต้องใช้ตัวทำละลายที่เป็นพิษ อีกทั้งในปฏิบัติการไทเทรตกรด-เบสยังมีการใช้อินดิเคเตอร์ธรรมชาติที่สกัดมาจากดอกฟ้าประทานพรโดยใช้เพียงน้ำร้อนในการสกัดสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดขึ้นบน  $\mu$ PAD ได้อย่างชัดเจนด้วยตาเปล่า นอกจากนี้ยังมีการทดสอบวิธีที่พัฒนาขึ้นโดยการตรวจวัดปริมาณกรดในตัวอย่างจริง ได้แก่ น้ำยาล้างห้องน้ำ และน้ำส้มสายชู โดยวิธีที่พัฒนาขึ้นมีจุดเด่นเมื่อเทียบกับการไทเทรตด้วยวิธีมาตรฐานในแง่ของ ต้นทุนต่ำ รวดเร็ว ใช้สารปริมาณน้อย ไม่ต้องมีความชำนาญในการทดลอง พกพาสะดวก

เหมาะแก่การวิเคราะห์ภาคสนาม (on-site analysis) และอีกทั้งยังสอดคล้องกับหลักการเคมีสีเขียว

### วัสดุ/อุปกรณ์ และสารเคมี

วัสดุ/อุปกรณ์ที่ใช้สร้าง  $\mu$ PAD ด้วยเทคนิคการพิมพ์สกรีนด้วยไขประกอบไปด้วยแม่แบบสกรีนที่ออกแบบเป็นรูปร่างกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 และ 1.2 เซนติเมตร จัดทำโดยร้านสกรีนในท้องถิ่น ยางปาดสกรีนชนิดหน้าตัดรูปตัววี ไข (paraffin wax) ไดรเป่าลมร้อนกำลังไฟ 1000 วัตต์ (Panasonic) กระดาษกรองเบอร์ 1 และเบอร์ 4 (Whatman filter paper) และไมโครปิเปตต์ขนาด 1–10 ไมโครลิตร (Huawei) CU smartlens กำลังขยาย 50 เท่า สำหรับการถ่ายภาพช่องทางการไหลบน  $\mu$ PAD สารเคมีที่ใช้ในการทดลองเป็น AR เกรดทั้งหมด ประกอบด้วย โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) และ ทริส(ไฮดรอกซีเมทิล)อะมิโนมีเทน ( $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$ )

จากบริษัท Fluka โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต ( $\text{NaHCO}_3$ ) โซเดียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{NaOH}$ ) โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต ( $\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_4\text{K}$ ) โพแทสเซียมคลอไรด์ ( $\text{KCl}$ ) กรดแอซติก ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) กรดไฮโดรคลอริก ( $\text{HCl}$ ) เอทานอล ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) และฟีนอล์ฟทาเลิน ( $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$ ) จากบริษัท Carlo Erba ยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์ (Universal indicator) จากบริษัท LOBA Chemie น้ำส้มสายชูที่ระบุความเข้มข้นกรดแอซติกเป็นร้อยละ 5 (เอกซัย ดีสทริบิวชั่นซิสเทม จำกัด) น้ำยาล้างห้องน้ำที่ระบุความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก ร้อยละ 15 (S.C. Johnson & Son, Ltd.) จากร้านขายของชำในท้องถิ่น โดยน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารเคมีทุกชนิดเป็นน้ำปราศจากไอออน

### วิธีดำเนินการวิจัย

*การสร้างอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษด้วยเทคนิคการพิมพ์สกรีนด้วยไซ*

ในงานวิจัยนี้ใช้วิธีการสร้าง  $\mu\text{PAD}$  ด้วยเทคนิคการพิมพ์สกรีนด้วยไซซึ่งปรับปรุงจาก Namwong *et al.* (2018) เริ่มจากการออกแบบช่องรองรับปฏิกิริยาและการจัดวางให้มีลักษณะดังในข้อมูลเสริม (supplementary information) ภาพที่ S1ก โดยใช้โปรแกรม CorelDraw X8 เพื่อนำไปจัดทำเป็นสกรีนแม่แบบ (ภาพที่ S1ข) ในขั้นตอนการสร้าง  $\mu\text{PAD}$  วางสกรีนแม่แบบที่ได้บนกระดาษกรองที่ถูกตัดให้ได้ขนาด  $6.00 \times 15.00$  เซนติเมตร จากนั้นนำไขมาชุบดริต (squeeze) ลงบนสกรีนแม่แบบและกำจัดไขส่วนเกินออกด้วยยางปาดสกรีน จากนั้นใช้ไดร์เป่าลมร้อนให้ความร้อนบริเวณที่ชุบดริตไซเป็นเวลา 5–10 วินาที เพื่อให้ไซเกิดการหลอมและละลายเข้าไปในเนื้อกระดาษ

ทำให้บริเวณที่ไซละลายบนเนื้อกระดาษจะมีลักษณะที่ไม่ชอบน้ำและเกิดเป็นช่องรองรับปฏิกิริยาตามที่ออกแบบ ดังในแผนผังที่ S1

*การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดแอนโทไซยานินจากดอกฟ้าประทานพร*

การศึกษาผลของการสกัดแอนโทไซยานินจากดอกฟ้าประทานพรด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ได้แก่ การสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออน (ที่อุณหภูมิห้องและการต้ม) และการใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยน้ำหนักเป็นตัวสกัด เริ่มจากการชั่งน้ำหนักดอกฟ้าประทานพรสด 10.00 กรัม แล้วบดให้ละเอียดด้วยโกร่งแล้วนำไปสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออนที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร จากนั้นกรองส่วนที่ไม่ละลายด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วเก็บสารละลายที่ได้ไว้ในที่มืดเพื่อลดการสลายตัวของแอนโทไซยานิน (Laleh *et al.* 2006; Sipalhi *et al.* 2017) จากนั้นทำซ้ำอีกครั้งแต่เปลี่ยนตัวทำละลายเป็นเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยน้ำหนักแทน นอกจากนี้ เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิ จึงเลือกใช้ดอกฟ้าประทานพรสด นำดอกฟ้าประทานพรสดหนัก 10.00 กรัม ไปต้มในน้ำปราศจากไอออนที่เดือดเป็นเวลาประมาณ 15 นาที จากนั้นกรองสารละลายที่ได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำสารละลายที่ได้ไปเก็บไว้ในที่มืด ดังในแผนผังที่ S2

*การศึกษาสมบัติความเป็นอินดิเคเตอร์ของสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกฟ้าประทานพร*

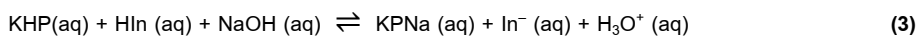
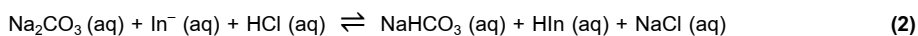
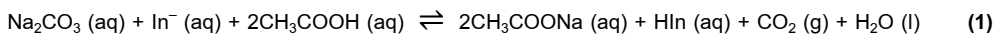
การศึกษาความเป็นอินดิเคเตอร์ของสารสกัดแอนโทไซยานินที่ได้มาจากการสกัดด้วยตัวทำละลายและสภาวะต่าง ๆ ของดอกฟ้าประ-

ทานพร โดยนำสารที่สกัดได้มาทำปฏิกิริยากับ สารละลายบัฟเฟอร์ที่ pH 1 ถึง 12 (ตาราง S1) โดยใช้ น้ำปราศจากไอออนเป็นแบลนด์ (blank) ซึ่งมีการศึกษาทั้งในระบบสารละลายและในระบบ  $\mu$ PAD เทียบกับอินดิเคเตอร์มาตรฐาน 2 ชนิด ได้แก่ ยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์และฟีนอล์ฟทาลีน โดยในระบบสารละลายจะเปิดสารละลาย บัฟเฟอร์ปริมาตร 4 มิลลิลิตรลงในขวดวัดปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยสารสกัดอินดิเคเตอร์ ธรรมชาติจากดอกฟ้าประทานพรจนครบปริมาตร 5 มิลลิลิตร สังเกตการเปลี่ยนสีของสารทั้ง 13 ขวด (รวมแบลนด์) และบันทึกผลการทดลอง โดยการถ่ายภาพ สำหรับระบบ  $\mu$ PAD จะเปิดสารละลายบัฟเฟอร์ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบน ช่องรองรับปฏิกิริยาบน  $\mu$ PAD แล้วปล่อยให้แห้ง พอหมดที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเปิดอินดิเคเตอร์ ธรรมชาติจากสารสกัดจากดอกฟ้าประทานพร 7 ไมโครลิตรของลงบน  $\mu$ PAD ที่มีบัฟเฟอร์อยู่ สังเกตการเปลี่ยนสีของสารทั้ง 13 ช่อง (รวมแบลนด์) และบันทึกผลการทดลองโดยการถ่ายภาพ

*การประยุกต์ใช้  $\mu$ PAD กับ การไทเทรตกรด-เบส ปฏิกิริยาต่าง ๆ และการทดสอบในตัวอย่างจริง โดยใช้อินดิเคเตอร์ที่มาจากดอกฟ้าประทานพร*

สารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ (primary standard) ที่ใช้สำหรับการหาปริมาณของกรดคือ โซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0.05–0.70 โมลต่อลิตร) ใช้ทำปฏิกิริยากับสารละลาย

มาตรฐานทุติยภูมิ (secondary standard) ได้แก่ กรดแอซติกซึ่งเป็นตัวแทนของกรดอ่อน (ความเข้มข้น 0.40 และ 0.60 โมลต่อลิตร) ตั้งใน สมการที่ 1 และกรดไฮโดรคลอริกซึ่งเป็นตัวแทนของ กรดแก่ (ความเข้มข้น 0.30 และ 0.40 โมลต่อ ลิตร) ตั้งในสมการที่ 2 สารละลายกรดมาตรฐาน มาตรฐานปฐมภูมิที่ใช้สำหรับการหาปริมาณของ เบส ได้แก่ โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตที่ ความเข้มข้นต่าง ๆ (0.05–0.40 โมลต่อลิตร) ใช้ ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานทุติยภูมิที่เป็น เบส ได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (ความเข้มข้น 0.15 และ 0.20 โมลต่อลิตร) ตั้งในสมการที่ 3 ใน การศึกษาเริ่มโดยเปิดอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติจากดอกฟ้าประทานพร 7 ไมโครลิตรหยดลง ช่องรองรับการเกิดปฏิกิริยาของ  $\mu$ PAD แล้วตาม ด้วย 7 ไมโครลิตรของสารละลายมาตรฐานทุติย- ภูมิ (หรือตัวอย่าง) ตามด้วย 7 ไมโครลิตรของสาร ละลายมาตรฐานปฐมภูมิ ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  หรือ KHP) ช่องละความเข้มข้น รอประมาณ 20 นาที สังเกต สีที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อหาจุดยุติของการไทเทรต จากนั้นทำซ้ำทั้งหมดอีกครั้งโดยเปลี่ยนอินดิเค- เตอร์เป็นฟีนอล์ฟทาลีนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นอกจากนี้ยังนำวิธีการที่ พัฒนาขึ้นไปทดสอบหาปริมาณกรดในตัวอย่าง จริง โดยเลือกหาปริมาณกรดไฮโดรคลอริกใน น้ำยาล้างห้องน้ำและปริมาณกรดแอซติกในน้ำ- สัมสายชูมาใช้ในการศึกษา โดยเจือจางตัวอย่าง ให้มีความเข้มข้นที่อยู่ในช่วงที่สามารถวิเคราะห์



ได้ (0.05–0.70 โมลต่อลิตร) ด้วยน้ำปราศจากไอออนก่อนทดสอบ และทดสอบตามวิธีการทดลองที่กล่าวมาข้างต้น

*การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐาน*

ในการทดสอบวิธีที่พัฒนาขึ้นใช้ปฏิกิริยาระหว่างโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.30 โมลต่อลิตรกับกรดแอสติคความเข้มข้น 0.60 โมลต่อลิตร (สมการที่ 1) และใช้อินดิเคเตอร์ที่มาจากดอกฟ้าประทานพร สำหรับวิธีมาตรฐานทำโดยปิเปตต์ 5 มิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตใส่ลงในขวดรูปชมพู่ แล้วเติมฟีนอล์ฟทาลีน 2 หยด เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปไทเทรตกับกรดแอสติคที่เตรียมไว้ ส่วนในวิธีที่พัฒนาขึ้นจะหยดอินดิเคเตอร์ที่ได้จากดอกฟ้าประทานพร ปริมาตร 7 ไมโครลิตร ลงบนช่องรองรับปฏิกิริยาบน  $\mu$ PAD แต่ละช่องตามด้วย 0.60 โมลต่อลิตรของกรดแอสติค 7 ไมโครลิตร และ 0.05–0.70 โมลต่อลิตร ของโซเดียมคาร์บอเนต 7 ไมโครลิตร ตามลำดับ สังเกตสีที่เกิดขึ้นและบันทึกผลการทดลองโดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำทั้ง 2 วิธี

**ผลการวิจัยและอภิปรายผล**

*การทดสอบการใช้ได้ของ  $\mu$ PAD ที่สร้างขึ้นด้วยเทคนิคการพิมพ์สกรีนด้วยไข*

ทำการทดสอบ  $\mu$ PAD ที่สร้างขึ้นด้วยเทคนิคการพิมพ์สกรีนด้วยไขที่มีช่องรองรับปฏิกิริยารูปร่างกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.00 ภาพที่ S2ก) และ 1.20 (ภาพที่ S2ข) เซนติเมตร โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของช่องรองรับปฏิกิริยาด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ จากการศึกษาพบว่าชิ้นงานจริงของ  $\mu$ PAD มีความยาวเส้นผ่าน

ศูนย์กลางเฉลี่ย  $0.91 \pm 0.02$  และ  $1.12 \pm 0.02$  สำหรับแบบตั้งต้น 1.00 และ 1.20 เซนติเมตรตามลำดับ (n=72) (ภาพที่ S2ค) และการทดสอบความชอบน้ำ–ไม่ชอบน้ำ (hydrophilic–hydrophobic contrast) ของ  $\mu$ PAD ที่สร้างขึ้น (ภาพที่ S2ง–S2จ) โดยการหยดน้ำสีผสมอาหารลงในบริเวณที่ชอบน้ำ และไม่ชอบน้ำและทำการถ่ายภาพผ่าน CU smartlens ที่กำลังขยาย 50 เท่า (ภาพที่ S2ง) เมื่อหยดน้ำสีลงไปลงในบริเวณที่ชอบน้ำ พบว่า น้ำสีจะเกิดการแพร่จนเต็มบริเวณโดยไม่เกิดการรั่วไหล ในขณะที่เมื่อหยดลงบนบริเวณที่ไม่ชอบน้ำ น้ำสีจะยังคงตัวเป็นหยดน้ำอยู่ ไม่สามารถไหลผ่านทะลุไปอีกด้านได้ (ภาพที่ S2จ) จึงสรุปได้ว่า  $\mu$ PAD ที่สร้างขึ้นด้วยเทคนิคการพิมพ์สกรีนด้วยไขในงานวิจัยนี้สามารถใช้งานได้จริง และจากการศึกษาจึงเลือกใช้  $\mu$ PAD ที่มีช่องรองรับปฏิกิริยา รูปร่างกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.00 เซนติเมตรในการศึกษาและทดลองต่อไป เนื่องจากเมื่อใช้พื้นที่รองรับการเกิดปฏิกิริยาที่มีขนาดเล็กกว่าส่งผลให้มีการใช้สารเคมีในปริมาณน้อยกว่าสอดคล้องกับหลักการของ “เคมีสีเขียว”

*การทดสอบความสามารถในการเป็นอินดิเคเตอร์ของสารสกัดแอนโทไซยานินที่ได้จากดอกฟ้าประทานพร*

ผลการศึกษาความเป็นอินดิเคเตอร์จากสารสกัดแอนโทไซยานินในดอกฟ้าประทานพรที่ใช้ตัวทำละลายแตกต่างกัน 3 ชนิด คือน้ำปราศจากไอออนที่อุณหภูมิห้องและต้มที่จุดเดือด และเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทั้งในระบบสารละลายและระบบ  $\mu$ PAD โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสีในแต่ละค่า pH ในช่วง pH 1–12 (ภาพที่ 2ก–2ข) พบว่า การเปลี่ยน

สีของแอนโทไซยานินที่สกัดด้วยน้ำปราศจากไอออนที่อุณหภูมิห้อง และเอทานอลในระบบสารละลายจะมีช่วงที่เห็นการเปลี่ยนสีไม่ชัดเจน เช่น ค่า pH ช่วง 2–3 3–4 และ 4–5 (ภาพที่ 2ก) และค่า pH ช่วง 4–6 และ 10–11 (ภาพที่ 2ค) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาที่ระบบ  $\mu$ PAD จะพบว่าสีที่ปรากฏในแต่ละค่า pH ไม่สามารถบ่งบอกความแตกต่างของค่า pH ได้ (ภาพที่ 2ข, 2ง) โดยอาจมีผลมาจากการที่เอทานอลสามารถระเหยได้เร็วกว่าน้ำ เมื่อมาอยู่บนระบบ  $\mu$ PAD ซึ่งเป็นระบบเปิด จึงระเหยได้ง่ายขึ้นทำให้ความเข้มข้นที่ได้ไม่มากพอที่จะอ่านค่า หรือแปลผลได้ ส่วนในกรณีการสกัดด้วยน้ำปราศจากไอออนที่อุณหภูมิห้อง จากการศึกษาท่อนหน้าของ Sharif *et al.* (2010) รายงานผลของอุณหภูมิในการสกัดแอนโทไซยานินในด้วยน้ำที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่าเมื่ออุณหภูมิที่มากกว่าอุณหภูมิห้องจะช่วยให้การสกัดดีขึ้นถึงค่าหนึ่ง ( $80^{\circ}\text{C}$ ) และเมื่อเกินจากนั้นความสามารถในการสกัดจะลดลง นั่นแสดงว่าความร้อนช่วยให้ความสามารถในการสกัดดีขึ้น ดังแสดงให้เห็นในการเปลี่ยนแปลงสีของสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกฟ้าประทานพรโดยใช้น้ำปราศจากไอออนต้มเป็นตัวทำละลายจะมีการเปลี่ยนแปลงสีที่ค่า pH ต่าง ๆ อย่างชัดเจนทั้งในระบบสารละลายและระบบ  $\mu$ PAD ดังในภาพที่ 2จ และ 2ช ตามลำดับ โดยการเปลี่ยนสีนั้นเกิดจากแอนโทไซยานินมีการเปลี่ยนโครงสร้างเมื่อค่า pH เปลี่ยนไป กล่าวคือ ช่วง pH 1–4 แอนโทไซยานินจะมีอยู่ 2 รูปแบบคือฟลาวิลีียม แคทไอออน (flavylium cation) และควินอยดอล บลู (quinoidal blue) โดยที่ pH 1 แอนโทไซยานินจะให้โทนสีแดงเนื่องจากโครงสร้างในรูปแบบของฟลาวิลีียม แคทไอออน จะแสดงออกมา

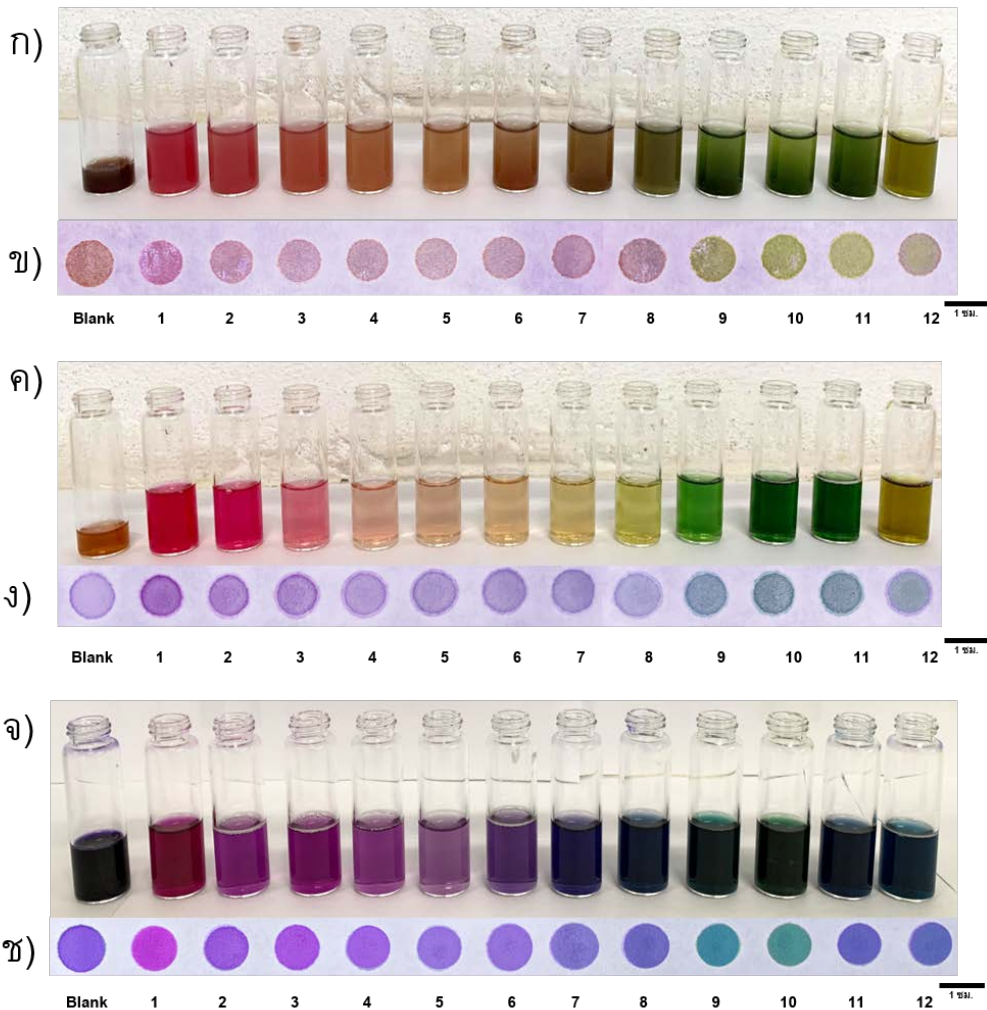
อย่างชัดเจน ดังนั้นจึงเห็นเป็นสีแดงและค่อย ๆ จางลงเป็นโทนสีม่วงแดงเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้นจนถึงประมาณ 4 เนื่องจากแอนโทไซยานินเริ่มมีการปรับเปลี่ยนรูปฟอร์มเป็นควินอยดอล บลู ซึ่งมีสีโทนน้ำเงิน เมื่อสีแดงของฟลาวิลีียม แคทไอออนผสมกับสีน้ำเงินของควินอยดอล บลู ที่เข้มข้น

ตามค่า pH จึงทำให้เห็นสีที่เกิดขึ้นเป็นสีม่วงอมแดง และเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้นจนอยู่ในช่วง pH 4–6 จะเห็นเป็นสีม่วงในฟอร์มซูโดเบส (pseudobase) ซึ่งไม่มีสีแต่สามารถสังเกตเห็นสีที่เกิดขึ้นได้เนื่องจากมีบางส่วนที่เริ่มมีรูปฟอร์มแบบแอนไฮโดรเบส (anhydro base) ซึ่งมีสีม่วง และจากนั้นเมื่อเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 7–8 จะเห็นเป็นโทนสีน้ำเงินเนื่องจากในช่วงพีเอชนี้จะมีรูปฟอร์มแอนไฮโดรเบสผสมกันกับแอนไฮโดรเบสแอนไอออน (anhydro base anion) จากนั้นเมื่อค่า pH มากกว่า 8 แอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปฟอร์มซาลโคน (chalcone) ที่มีสีเหลืองใส โดยจากการทดลองที่แสดงจะพบว่าที่ pH 9–10 จะเห็นเป็นสีเขียวเนื่องจากเป็นสีที่ผสมกันระหว่างสีเหลืองของโครงสร้างที่เป็นรูปฟอร์มซาลโคนกับสีม่วงอมน้ำเงินของแอนไฮโดรเบส แอนไอออน และเมื่อ pH เพิ่มขึ้นเป็น 11–12 จะเหลือเพียงโทนฟ้าของแอนไฮโดรเบส แอนไอออน (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009; Kovács *et al.*, 2014) นอกจากนี้ในการตรวจวัดที่ใช้การสังเกตการเปลี่ยนสีที่เกิดขึ้นในระบบ  $\mu$ PAD สีที่ได้ควรมีความเข้มข้นในระดับที่สามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงได้อย่างชัดเจน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกการใช้น้ำปราศจากไอออนต้มเป็นวิธีในการสกัด และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับอินดิเคเตอร์มาตรฐาน 2 ชนิด คือ ยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์ ซึ่งให้เจดสีที่แตกต่างกันไปตามค่า pH และฟีนอล์ฟทาลีนที่



จะเปลี่ยนสีจากใสไม่มีสีเป็นสีชมพู ในช่วงเบส (pH  $\geq 8$ ) ทั้งในระบบสารละลายและ  $\mu$ PAD ดังในภาพที่ S3 จะพบว่าแอนโทไซยานินที่สกัดได้นี้ให้สีที่มีความแตกต่างกันตามพีเอชที่เปลี่ยนไป

ซึ่งน่าจะสามารถนำไปใช้บอกค่า pH ของสารละลายต่าง ๆ แทนยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์ได้ และยังสามารถนำไปใช้เป็นอินดิเคเตอร์สำหรับการไทเทรตกรด-เบสแทนฟีนอล์ฟทาลีนได้ด้วย



ภาพที่ 2 การเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์จากสารสกัดแอนโทไซยานินในดอกฟ้าประทานพรที่พีเอช 1-12 โดย ก) ใช้น้ำปราศจากไอออนที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส เป็นตัวทำละลายในระบบสารละลาย ข) ระบบ  $\mu$ PAD ค) ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในระบบสารละลาย ง) ระบบ  $\mu$ PAD จ) ใช้น้ำปราศจากไอออนต้ม 100 องศาเซลเซียสในระบบสารละลาย และ ซ) ระบบ  $\mu$ PAD

### การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับชุดทดลอง การไทเทรตกรด-เบสระบบ $\mu$ PAD

ในการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม ได้ศึกษาพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่คาดว่าจะมีผลต่อการทดลอง เช่น ชนิดของกระดาษที่นำมาใช้สร้าง  $\mu$ PAD ปริมาตรของสาร เวลาที่เหมาะสม และลำดับในการหยุดสาร โดยจะใช้ปฏิกิริยาระหว่างกรดแอสติติกความเข้มข้น 0.60 โมลต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0.05–0.70 โมลต่อลิตร) เป็นต้นแบบสำหรับการศึกษาในครั้งนี้

เริ่มทำการศึกษาโดยการเปิดดีอินดิเคเตอร์ธรรมชาติจากสารสกัดจากดอกฟ้าประทาน ปริมาตร 5 7 และ 10 ไมโครลิตร ลงบน  $\mu$ PAD ที่สร้างบนกระดาษกรองเบอร์ 1 และ 4 จากนั้นสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์เพื่อจุดยุติที่เวลา 5 10 15 20 25 30 และ 60 นาที ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ S4 สำหรับชนิดของกระดาษกรองที่เหมาะสมคือกระดาษกรองเบอร์ 4 (ขนาดรูพรุน 20–25 ไมครอน) เนื่องจากมีขนาดรูพรุนที่ใหญ่กว่ากระดาษกรองเบอร์ 1 (ขนาดรูพรุน 11 ไมครอน) ส่งผลให้การกระจายตัวของเนื้อสารไปยังรูพรุนของกระดาษมีมากกว่าทำให้เกิดสารเกิดปฏิกิริยาได้ดีกว่าและสีที่เกิดขึ้นบน  $\mu$ PAD ที่สร้างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 มีความสม่ำเสมอมากกว่า (ภาพที่ S4ก–S4ข) สำหรับปริมาตรของสารละลายที่เหมาะสมคือ 7.00 ไมโครลิตร เนื่องจากที่ปริมาตร 5 ไมโครลิตร สีที่เกิดขึ้นมีความจางกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ปริมาตร 7 ไมโครลิตร และการใช้ที่ปริมาตร 10 ไมโครลิตรนั้นมากเกินไปทำให้สังเกตเห็นจุดยุติได้ยาก ต่อมาเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา โดยเวลาที่

เหมาะสมที่สุดคือ 20 นาที เนื่องจากสารละลายที่หยุดลงไปเริ่มแห้งและสามารถสังเกตสีที่เกิดขึ้นได้อย่างชัดเจน โดยที่เวลามากขึ้นจะทำให้สีที่เกิดขึ้นจางหายไปจนไม่สามารถสังเกตจุดยุติได้

สำหรับลำดับในการหยุดสาร จะมีการนำสภาวะที่เหมาะสมที่ได้ (การใช้กระดาษกรองเบอร์ 4 ในการสร้าง  $\mu$ PAD ปริมาตรของสาร 7 ไมโครลิตร เวลาที่เหมาะสม 20 นาที) มาศึกษาลำดับในการหยุดสารลงบน  $\mu$ PAD โดยมีลำดับดังนี้ 1) อินดิเคเตอร์-เบส-กรด 2) อินดิเคเตอร์-กรด-เบส 3) กรด-อินดิเคเตอร์-เบส และ 4) เบส-อินดิเคเตอร์-กรด ดังในภาพที่ S5 พบว่าลำดับของการหยุดสารที่เหมาะสมที่สุดคือ แบบที่ 2 เนื่องจากสามารถสังเกตการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์บริเวณช่องรองรับการเกิดปฏิกิริยาที่จุดยุติได้อย่างชัดเจน (โซเดียมคาร์บอเนต 0.30 โมลต่อลิตร) โดยเปลี่ยนจากสีม่วงในช่วงกรด (ช่วงก่อนถึงจุดยุติ) เป็นสีเขียวในช่วงเบส (ช่วงหลังถึงจุดยุติ) ซึ่งสอดคล้องกับช่วงการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานิน เนื่องจากการที่อินดิเคเตอร์อยู่ในสภาวะกรดทำให้มีโครงสร้างที่เสถียร ส่วนลำดับการหยุดสารรูปแบบที่ 1 และ 4 ซึ่งเป็นการที่อินดิเคเตอร์อยู่ในสภาวะเบสก่อน ซึ่งมีการศึกษาและรายงานก่อนหน้าว่าที่ค่า pH มากกว่า 8 วงเบนซินที่อยู่ตรงกลางในโครงสร้างของแอนโทไซยานินจะเกิดการเปิดวงทำให้ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับได้ (Kovács *et al.*, 2014) ทำให้เห็นสีโทนสีม่วงชมพูคล้ายกันทุกจุด จึงทำให้ลำดับการหยุดสารดังกล่าวไม่สามารถใช้บอกจุดยุติของปฏิกิริยาได้ ในขณะที่การหยุดสารในรูปแบบที่ 3 เมื่อเทียบกับการหยุดแบบที่ 2 จะเห็นเป็นการสลับลำดับการหยุดระหว่างอินดิเคเตอร์กับกรดเท่านั้น แต่กลับให้ผลที่แตกต่างกัน

เนื่องจากอินดิเคเตอร์ซึ่งเป็นสารที่ให้สีเมื่อหยดก่อนกรด สาเหตุเป็นเพราะสารที่หยดลงไปเป็นชนิดแรกจะสามารถกระจายตัวไปทั่วพื้นที่ที่เตรียมไว้และเกาะติดกับเส้นใยเซลลูโลสของกระดาษไปบางส่วน ดังนั้นเมื่อหยดกรดลงไปก่อนแล้วตามด้วยอินดิเคเตอร์จะทำให้กรดที่ส่วนหนึ่งเกาะบนเส้นใยกระดาษและโดนอินดิเคเตอร์บังคับทำให้ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับเบสซึ่งหยดเป็นลำดับสุดท้าย จึงทำให้เห็นสีของจุดยุติคลาดเคลื่อน

#### การไทเทรตบนระบบ $\mu$ PAD โดยใช้สารสกัดจากดอกฟ้าประทานพรเป็นอินดิเคเตอร์

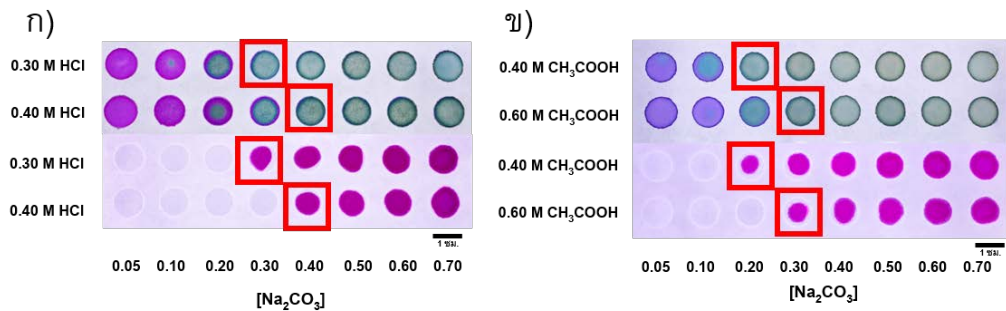
ในการไทเทรตบนระบบ  $\mu$ PAD โดยใช้สารสกัดจากดอกฟ้าประทานพรเป็นอินดิเคเตอร์จะใช้วิธีการดูสีที่เปลี่ยนไปในช่องรองรับการเกิดปฏิกิริยา โดยจุดยุติจะอยู่ที่ช่องรองรับปฏิกิริยาแรก que เห็นการเปลี่ยนสีหมดทั้งช่อง แต่ในกรณีที่ใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ จุดยุติคือช่องรองรับปฏิกิริยาแรกที่วงสีชมพูมีขนาดเล็กลง โดยในการศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นของกรดแก่โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.30 และ 0.40 โมลต่อลิตร ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.05–0.70 โมลต่อลิตร (ปฏิกิริยาอัตราส่วน 1:1) ใช้สารสกัดจากดอกฟ้าประทานพรเป็นอินดิเคเตอร์เทียบกับอินดิเคเตอร์มาตรฐาน (ฟีนอล์ฟทาลีน) ดังในภาพที่ 3 เมื่อเปิดเตี๋กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.30 โมลต่อลิตร ลงในช่องรองรับการเกิดปฏิกิริยาทุกช่อง พบว่า โซเดียมคาร์บอเนตในช่วงความเข้มข้น 0.05–0.20 โมลต่อลิตรนั้นจะมีกรดไฮโดรคลอริกที่มากเกินพอในการทำ

ปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนต (ก่อนถึงจุดยุติของปฏิกิริยา) ส่งผลให้สารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนตหมดไป เหลือเฉพาะกรดไฮโดรคลอริกทำให้ในช่องรองรับการเกิดปฏิกิริยามีสภาวะเป็นกรดที่มีค่า pH ในช่วง 0.90–1.30 ทำให้แอนโทไซยานินอยู่ในฟอร์มของฟลาวิลีเลียม แคทไอออน (flavylium cation) และควิโนอยดอล บลู (quinoidal blue) ซึ่งปรากฏเป็นสีแดงและสีม่วงตามลำดับ (ตาราง S2) ถัดไปที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนตเป็น 0.30 โมลต่อลิตร ซึ่งเป็นจุดที่สารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนตทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดไฮโดรคลอริกเกิดผลิตภัณฑ์เป็นเกลือโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต ( $\text{NaHCO}_3$ ) ส่งผลให้ช่องรองรับการเกิดปฏิกิริยามีความเป็นเบสซึ่งมีค่า pH ประมาณ 5.54 ทำให้แอนโทไซยานินอยู่ในฟอร์มควิโนอยดอล บลู ซึ่งมีสีโทนน้ำเงิน และฟอร์มซาลโคเนที่มีสีเหลือง เกิดการผสมกันจึงสามารถสังเกตเห็นเป็นสีเขียว จึงกล่าวได้ว่าเป็นจุดสมมูลและจุดยุติของปฏิกิริยา และที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนตเป็น 0.40–0.70 โมลต่อลิตรซึ่งเป็นช่วงที่มีสารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนตมากเกินไปพอในการทำปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริก ส่งผลให้กรดไฮโดรคลอริกหมดไป ในช่องรองรับการเกิดปฏิกิริยาจึงเหลือเฉพาะสารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนต ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเบสมีค่า pH ในช่วง 9.85–10.45 (ตาราง S2) ดังนั้นเมื่อสังเกตสีบริเวณช่องรองรับการเกิดปฏิกิริยาจึงเห็นเป็นสีเขียวเนื่องจากการเกิดฟอร์มผสมกัน

ระหว่างสีเหลืองของโครงสร้างที่เป็นรูปฟอร์มซาลโคนกับสีม่วงอมน้ำเงินของแอนไฮโดรเบสแอนไอออน จึงกล่าวได้ว่าเป็นช่วงหลังจุดยุติของปฏิกิริยา (สมการที่ 2) และเมื่อทำการทดลองโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของสารตัวอย่างกรดไฮโดรคลอริกเป็น 0.40 โมลต่อลิตร ซึ่งจะเกิดกลไกในการเกิดสีตามที่อธิบายข้างต้น ซึ่งจะสังเกตเห็นสีเขียวเกิดขึ้นที่ช่องรองรับการเกิดปฏิกิริยาที่ใช้โซเดียมคาร์บอเนต 0.40 M และถือเป็นจุดสมมูลและจุดยุติของปฏิกิริยาและเมื่อเทียบกับฟีนอล์ฟทาลีนซึ่งเป็นอินดิเคเตอร์มาตรฐานพบว่าได้จุดยุติที่ตำแหน่งเดียวกันดังในภาพที่ 3ก นอกจากนี้เมื่อเปลี่ยนสารตัวอย่างเป็นกรดแอสติคความเข้มข้น 0.4 และ 0.60 โมลต่อลิตรไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนต (ปฏิกิริยาอัตราส่วน 2:1) (สมการ 1) โดยกลไกในการเกิดสีเป็นไปตามที่อธิบายข้างต้น เช่นเดียวกันกับปฏิกิริยาของกรดไฮโดรคลอริก โดยผลการทดลองที่ได้นั้นมีความสอดคล้องและเป็นไปตามกลไกที่นำเสนอ ผลการทดลองดังใน

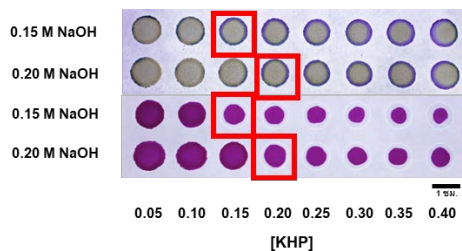
ภาพที่ 3ข และการคำนวณค่า pH ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในตาราง S3

สำหรับปฏิกิริยาการไทเทรตเบสแก่ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.15 และ 0.20 โมลต่อลิตร ตามลำดับ โดยไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตความเข้มข้นในช่วง 0.05–0.40 โมลต่อลิตร (ปฏิกิริยาอัตราส่วน 1:1) ดังในสมการที่ 3 โดยได้ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ 4 เมื่อเปิดสารตัวอย่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.15 โมลต่อลิตร ลงในช่องรองรับการเกิดปฏิกิริยาทุกช่อง พบว่า ในช่วงความเข้มข้น 0.05–0.10 โมลต่อลิตร จะมีโซเดียมไฮดรอกไซด์มีมากเกินไปในการทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต ส่งผลให้สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตหมดไป เหลือเฉพาะโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเบสมีค่า pH ในช่วง 12.70–12.40 (ตาราง S4) และสังเกตเห็นเป็นสีเขียวของการเกิดฟอร์มซาลโคนกับสีม่วงอมน้ำเงินของแอนไฮโดร-



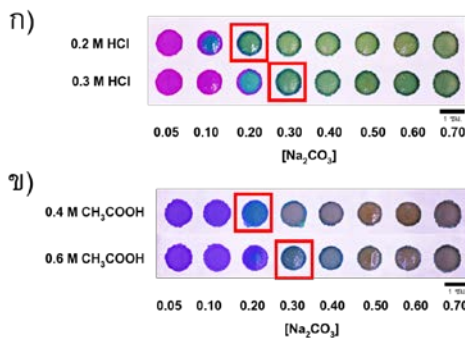
ภาพที่ 3 การไทเทรตกรดแก่ (HCl) ด้วยสารละลายมาตรฐาน  $Na_2CO_3$  ก) การไทเทรตกรดอ่อน ( $CH_3COOH$ ) ด้วยสารละลายมาตรฐาน  $Na_2CO_3$  และ ข) โดยใช้อินดิเคเตอร์ที่สกัดจากดอกฟ้าประทานพรและฟีนอล์ฟทาลีน

เบส แอนไอออน จึงกล่าวได้ว่าเป็นช่วงก่อนถึง จุดยุติของปฏิกิริยา เมื่อความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต เป็น 0.15 โมลต่อลิตร พบว่าสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตทำปฏิกิริยาพอดีกับโซเดียมไฮดรอกไซด์เกิดผลิตภัณฑ์เป็นเกลือ KNaA ส่งผลให้ช่องรองรับปฏิกิริยามีสถานะเป็นเบสที่ pH 9.14 เมื่อสังเกตสีบริเวณช่องรองรับการเกิดปฏิกิริยาจึงเริ่มเกิดเป็นสีม่วง ซึ่งเป็นสีของฟอร์มแอนไฮโดรเบส แอนไอออน จึงกล่าวได้ว่าเป็นจุดสมมูลและจุดยุติของปฏิกิริยา (ตาราง S4) จากนั้นที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตเป็น 0.20–0.40 โมลต่อลิตร พบว่า สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตมีมากเกินไปในการทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์ ส่งผลให้โซเดียมไฮดรอกไซด์หมดไป เหลือเฉพาะสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตซึ่งมีคุณสมบัติเป็นกรดมีค่า pH ในช่วง 5.88–5.19 (ตาราง S4) ดังนั้นเมื่อสังเกตสีบริเวณช่องรองรับการเกิดปฏิกิริยาจึงเป็นสีม่วงซึ่งเป็นสีของฟอร์มควินอยดอล บลู ซึ่งมีสีโทนน้ำเงิน เช่นเดียวกับที่ทดสอบการไทเทรต 0.20 โมลต่อลิตร โซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งสามารถสังเกตจุดยุติได้ที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลตเป็น 0.20 M และเมื่อเทียบกับฟีนอล์ฟทาไลน์ซึ่งเป็นอินดิเคเตอร์มาตรฐานพบว่าได้จุดยุติที่ตำแหน่งเดียวกันดังในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 การไทเทรตเบสแก่ (NaOH) ด้วยสารละลายมาตรฐาน KHP

ล้างห้องน้ำ (ระบุความเข้มข้นร้อยละ 15 กรดไฮโดรคลอริก) นำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.20 และ 0.30 โมลต่อลิตร และน้ำส้มสายชูที่มีกรดแอสिटิก (ระบุความเข้มข้นร้อยละ 5 กรดแอสिटิก) นำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.40 และ 0.60 โมลต่อลิตร ซึ่งสามารถสังเกตเห็นจุดยุติของปฏิกิริยาได้อย่างชัดเจนโดยที่มีกลไกการเกิดสีตามที่กล่าวไปข้างต้น และยังให้ผลสอดคล้องกับทฤษฎีสมดุลกรด-เบส ดังในภาพที่ 5ก และ 5ข



ภาพที่ 5 การไทเทรตสารในชีวิตประจำวัน

ก) กรดไฮโดรคลอริก (HCl) จากน้ำยาล้างห้องน้ำ และ ข) การไทเทรตกรดกรดแอสिटิก ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) จากน้ำส้มสายชู

นอกจากนี้การวิจัยนี้ยังประยุกต์ใช้สารสกัดจากดอกฟ้าประทานพรเพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตสารในชีวิตประจำวัน ได้แก่ น้ำยา

### การทดสอบความถูกต้องของ $\mu$ PAD ที่พัฒนาขึ้น

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้นทำได้โดยการหาจุดยุติของปฏิกิริยาการไทเทรตของกรดแอสติก บนระบบการไทเทรตแบบดั้งเดิม (conventional titration) โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์เทียบกับวิธีที่พัฒนาขึ้น ( $\mu$ PAD) โดยใช้อินดิเคเตอร์ที่ได้จากดอกฟ้าประทานพร ผลการทดลองแสดงดังในภาพที่ S6 และตาราง S5 พบว่าจุดยุติที่สังเกตได้ทั้งในระบบการไทเทรตแบบดั้งเดิมและการใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นนั้นมีความสอดคล้องกันโดยการใช้อัตราของกรดแอสติกที่ความเข้มข้น 0.60 M จึงสรุปได้ว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความถูกต้องเทียบเท่ากับวิธีไทเทรตแบบดั้งเดิม

### เสถียรภาพของอินดิเคเตอร์ที่ได้จากดอกฟ้าประทานพร

ทำการศึกษาเสถียรภาพของแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากดอกฟ้าประทานพร โดยนำสารละลายแข่วไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารละลายมาทดสอบการเป็นอินดิเคเตอร์บนปฏิกิริยาการไทเทรตระหว่างโซเดียมคาร์บอเนตกับกรดแอสติกบน  $\mu$ PAD ทุกวันติดต่อกันเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าสามารถใช้เป็นอินดิเคเตอร์บอกจุดยุติ (ที่ความเข้มข้นโซเดียมคาร์บอเนต 0.30 โมลต่อลิตร) ซึ่งที่จุดยุติจะสังเกตการเปลี่ยนแปลงจากสีม่วงเป็นสีเขียวอย่างชัดเจนในช่วง 2 วันแรก แต่หลังจากวันที่ 2 เป็นต้นไปพบว่าสีที่เกิดขึ้นที่จุดยุติจะคลาดเคลื่อนไปเล็กน้อยและมีการเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีที่ไม่สม่ำเสมอ ดังในภาพที่ S7 เนื่องจากการเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลานานอาจส่งผลให้ความคงตัวของสารสกัดลดลง ดังนั้นจึงควรใช้ภายใน 1–2

วันหลังจากการสกัดและควรเก็บสารละลายไว้ในตู้เย็น

### สรุปผลการวิจัย

ชุดอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ ( $\mu$ PAD) ที่ผู้วิจัยสร้างขึ้นด้วยเทคนิคการพิมพ์สกรีนอย่างง่ายด้วยไข (wax screen printing) และมีการนำแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากดอกฟ้าประทานพร ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ทำให้เกิดสีในพืชดอก มาใช้ในการเป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตกรด–เบสต่าง ๆ โดยในการสร้างอุปกรณ์กระดาษนั้นยึดแนวคิดเคมีสีเขียว (green chemistry) คือ การใช้กระดาษที่สามารถย่อยสลายได้แทนการใช้เครื่องแก้ว การใช้สารเคมีปริมาณน้อยก่อให้เกิดของเสียที่น้อยลง (ใช้สารเคมีรวมทั้งหมดไม่เกิน 21 ไมโครลิตร) และ การใช้อินดิเคเตอร์ที่ได้จากพืชธรรมชาติซึ่งไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม โดยชุดทดลองดังกล่าวสามารถใช้ระบุจุดยุติของการไทเทรตได้อีกทั้งสามารถหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ต้องการทราบได้โดยอาศัยเพียงแค่อุปกรณ์กระดาษปฐุมภูมิ ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  สำหรับการหาปริมาณกรด และ KHP สำหรับการหาปริมาณเบส) โดยชุดทดลองที่พัฒนาขึ้นมีข้อดีมากกว่าเมื่อเทียบกับการไทเทรตด้วยวิธีมาตรฐานในแง่ของ ต้นทุนต่ำ ใช้สารปริมาณน้อย ไม่ต้องทำการปรับมาตรฐาน (standardization) ของไทเทรนต์ ไม่ต้องมีความชำนาญในการทดลอง พกพาสะดวกเหมาะแก่การวิเคราะห์ภาคสนาม (on-site analysis) และคาดว่าอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นสามารถเป็นอุปกรณ์ทางเลือกเพื่อใช้เป็นชุดทดลองในวิชาเคมีในการจัดการเรียนรู้

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) โครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ (สควค.) สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.): NRCT-RSA63023-01, NRCT5-RGJ63020 ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี (PERCH-CIC) กระทรวงอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อุดมราชธานีที่ได้ให้ทุนสนับสนุนอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ และเครื่องมือในการทดลองและนางสาวอารีญา สีหะวงษ์ ภายใต้โครงการพัฒนาอัจฉริยภาพทางวิทยาศาสตร์สำหรับเด็กและเยาวชนระดับมัธยมศึกษาตอนปลายและปริญญาตรีรุ่นที่ 21 ประจำปี 2561 สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติสำหรับการทดลองเบื้องต้น

## เอกสารอ้างอิง

- Byamukama, R., Waninda, E. N., Mukama, D., and Namukobe, J. (2016). *Hippeastrum hybridum* anthocyanins as indicators of endpoint in acid–base titrations. **International Journal of Biological and Chemical Sciences** 10(6): 2716–27.
- Castañeda–Ovando A., Pacheco–Hernández, M. D. L., Páez–Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., and Galán–Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry** 113: 859–871.
- Din–a, A., Tamuang, S., Amatatongchai, M., Jarujamrus, P., and Chairam, S. (2016). Simple, low–cost and small scale titration set for microscale laboratory in classroom. **Journal of Research Unit on Science, Technology and Environment for Learning** 7(2): 424–436. (in Thai)
- Garber, K. C., Odendaal, A. Y., and Carlson, E. E. (2013). Plant pigment identification: A classroom and outreach activity. **Journal of Chemical Education** 90(6): 755–759.
- Gupta, P., Jain, P., and Jain, P. K. (2012). Flower sap: A natural resource as indicator in acidimetry and alkalimetry. **International Journal of ChemTech Research** 4(4): 1619–1622.
- Karita, S., and Kaneta, T. (2014). Acid–base titrations using microfluidic paper–based analytical device. **Analytical Chemistry** 86(24): 12108–12114.
- Kovács, L., Csopor, D., Lente, G., and Gunda, T. (Eds). (2014) **100 Chemical Myths; Misconceptions, Misunderstandings, Explanations**. Switzerland: Springer International.
- Laleh, G. H., Frydoonfar, H., Heidary, R., Jameei, R., and Zare, S. (2006). The effect of light, temperature, pH and species on stability of anthocyanin pigments in four berberis species. **Pakistan Journal of Nutrition** 5(1): 90–92.
- Lertsuwunpaisal, P., Yoome, P., and Srisopa, A. (2016). Titration technique development based on microscale and the implement

- in science classes. **Humanities and Social Sciences Journal of Graduate School, Pibulsongkram Rajabhat University** 10(2): 18–36. (in Thai)
- Namwong, P., Jarujamrus, P., Amatongchai, M., and Chairam, S. (2018). Fabricating simple wax screen–printing paper–based analytical devices to demonstrate the concept of limiting reagent in acid–base reactions. **Journal of Chemical Education** 95(2): 305–309.
- Nogueira, S. A., Sousa, L. R., Silva, N. K. L., Rodrigues, P. H. F., and Coltro, W. K. T. (2017). Monitoring acid–base titrations on wax printed paper microzones using a smartphone. **Micromachines** 8(5): 139.
- Sukaram, T., Sakunrungrit, K., Juanjankarn, J., Siriboon, J., Sirisakwisut, P., Yensamran, Y., Chaneam, S. (2020). Application of natural reagent from orchid flower as indicator for volumetric acid–base titration. **Thai Science and Technology Journal** 28(9):1545–1557. (in Thai)
- Suppadit, T., Sunthorn, N., and Pongsuk, 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.
- Taghizadeh–Behbahani, M., Hemmateenejad, B., and Shamsipur, M. (2018). Colorimetric determination of acidity constant using a paper–based microfluidic analytical device. **Chemical Papers** 72(5): 1239–1247.
- Teprek, A., Artono, V. P., Waiyawat, W., Lim-sakul, A., Shiowatana, J., Siripinyanond, A. (2020) Semi–quantitative analysis by spot counting on origami paper–based device for endpoint detection in titrimetric analysis. **Microchemical Journal** 158: 105284.
- Thongpoon, C., and Kraison, P. (2015). Acid–base titration by using butterfly pea extract as indicator. **Rajabhat Journal of Sciences, Humanities and Social Sciences** 16(2): 156–66. (in Thai)
- Vankar, P. S., and Bajpai D. (2010). Rose anthocyanins as acid base indicators. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry** 9(5): 875–84.
- Wongchuphan, R., Choonim, K., and Thongpoon, C. (2016). Colored plants used as natural indicators. **Rajabhat Journal of Sciences, Humanities and Social Sciences**. 17(1): 74–83. (in Thai)
- บทความนี้ข้อมูลเสริม (supplementary information) อยู่บนเว็บไซต์ของวารสาร ได้แก่ ภาพและตารางของการทดลองการไทเทรตกรด–เบสบนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ (ไมโครแพด) โดยใช้อินดิเคเตอร์ธรรมชาติ