โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ	การทดลองจลนพลศาสตร์โดยอาศัยสีย้อมจากธรรมชาติที่ย่อยสลายได้และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม Kinetic experiment based on biodegradable and eco-friendly natural dyes

ชื่อนิสิต	นางสาวมาลินี กาษภักดี เลขประจำตัว 5833075723
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2561

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงงานทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงงานทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด
The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the senior project authors' files submitted through the faculty.

การทดลองจลนพลศาสตร์โดยอาศัยสีย้อมจากธรรมชาติที่ย่อยสลายได้และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

Kinetic experiment based on biodegradable and eco-friendly natural dyes

โดย

นางสาวมาลินี กาษภักดี

รายงานนี้เป็นสวนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2561

โครงการ การทดลองจลนพลศาสตร์โดยอาศัยสีย้อมจากธรรมชาติที่ย่อยสลายได้และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

โดย นางสาวมาลินี กาหภักดี

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

.... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พุทธรักษา วรานุศุภากุล)

.... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.เสาวรักษ์ เฟื่องสวัสดิ์)

.... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิปกา สุขภิรมย์)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

.... หัวหน้าภาควิชาเคมี
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ 24 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2562

ชื่อโครงการ การทดลองจลนพลศาสตร์โดยอาศัยสีย้อมจากธรรมชาติที่ย่อยสลายได้และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวมาลินี กาพภักดี เลขประจำตัว 5833075723

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. เสาวรักษ์ เฟื่องสวัสดิ์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2561

บทคัดย่อ

การทดลองจลนพลศาสตร์เป็นปฏิบัติการหนึ่งที่สำคัญในรายวิชาปฏิบัติการการเรียนการสอนเคมีทั่วไป 1 ของภาควิชาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยปัจจุบันใช้สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) เป็นสารตั้งต้น ซึ่งโครเมียม (VI) มีความเป็นพิษ ทำให้เกิดของเสียและค่าใช้จ่ายในการกำจัดสารสูง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อออกแบบการทดลองจลนพลศาสตร์โดยใช้สีย้อมจากธรรมชาติที่ย่อยสลายได้และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เพื่อลดปัญหาการเกิดของเสีย โดยรงควัตถุธรรมชาติที่เลือกใช้คือแอนโทไซยานินที่สกัดจากดอกอัญชัน นำมาศึกษาปฏิกิริยาการสลายตัวโดยการทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3% ซึ่งมากเกินพอและเข้มข้นกว่าแอนโทไซยานินมากๆ ติดตามปฏิกิริยาได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงผ่านเครื่องสเปกโทรนิค 21 ผลพบว่าเป็นปฏิกิริยาอันดับ 1 เมื่อเทียบกับแอนโทไซยานิน การศึกษาความเข้มข้นของสารตั้งต้นพบว่าภาวะที่เหมาะสมคือการใช้สารละลายแอนโทไซยานินที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 nm ในช่วง 0.6 – 0.7 (A0.6-07) การศึกษาผลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ (3 – 24%) พบว่า H_2O_2 3% ให้ผลดีที่สุด และการใช้ $CuSO_4$ 0.03 M 1 หยด ช่วยลดเวลาการทำการทดลองลงจากเฉลี่ย 28 นาทีให้เหลือเฉลี่ย 20 นาที การทดสอบวิธีการทดลองจากภาวะที่ดีที่สุด คือการใช้ A0.6-0.7, 3% H_2O_2 และ $CuSO_4$ 0.03 M 1 หยด โดยใช้ผู้ทดลอง 11 คนรวมผู้วิจัย ทำการทดลองทั้งหมด 33 ซ้ำ ให้ผลใกล้เคียงกัน คือเป็นปฏิกิริยาอันดับ 1 อย่างชัดเจน มีค่าคงที่อัตราในช่วง 0.0418-0.09003 และค่าครึ่งชีวิตเฉลี่ย 10 นาที ใช้เวลาการทดลองเฉลี่ย 20 นาที แสดงให้เห็นว่าแม้จะใช้เวลาในการทดลองนานระยะหนึ่ง แต่พอมีความเป็นไปได้ในการนำไปใช้ในรายวิชาปฏิบัติการเคมีทั่วไป 1 เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนเชิงเคมีสีเขียวได้

คำสำคัญ: จลนพลศาสตร์, สีย้อมจากธรรมชาติ, แอนโทไซยานิน

Project Title Kinetic experiment based on biodegradable and eco-friendly natural dyes

Student Name Miss. Malinee Kalapakdee Student ID 5833075723

Advisor Name Associate Professor Dr. Saowarux Fuangswasdi, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2018

Abstract

A Kinetic study is an important experiment in General Chemistry Laboratory 1 by Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University. Currently, potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) is used as a reactant which involves toxic Cr (VI) thus hazardous waste and high cost in remediation. This research aimed to design a kinetic experiment based on biodegradable and environmentally friendly natural dye to reduce toxic waste generation. Anthocyanins from abundant butterfly pea flowers was chosen as the natural pigment in this study. Absorbances obtained using general instrument like Spectronic 21 was used to follow a degradation of anthocyanins upon reacting with 3% H_2O_2 in a flooding fashion and the reaction order was 1 with respect to anthocyanins. The suitable amount of anthocyanins for degradation study was a solution with absorbance of 0.6 – 0.7 at 570 nm (A0.6-0.7). The concentration of H_2O_2, varied from 3 – 24%, that gave the best result was 3%. Addition of 1 drop of 0.03 M $CuSO_4$ reduced an experimental time from 28 min to 20 min in average. The best experimental procedure which was using A0.6-0.7, 3% H_2O_2, and 1 drop of 0.03 M $CuSO_4$, was tested by 11 individuals including the author with a total of 33 separate experiments. All the tests similarly showed an obvious reaction order of one with respect to anthocyanins with rate constants in the range of 0.0418 – 0.09003, an average half-life of 10 min and an average experimental time of 20 min. The results suggest that this slightly long experiment could be managed to use in General Chemistry Laboratory 1 class to promote green chemistry instruction.

Keywords: kinetic, natural dyes, anthocyanins

กิตติกรรมประกาศ

การทำโครงการวิจัยครั้งนี้ผู้จัดทำขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.เสาวรักษ์ เฟื่องสวัสดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และแนวทางการดำเนินงานวิจัย อีกทั้งสละเวลาในการให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ จนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พุทธรักษา วรานุศุภากุล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิปกา สุขภิรมย์ ที่กรุณาสละเวลาเพื่อตรวจทาน แก้ไข และให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมี ชั้น 7 ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ห้องปฏิบัติการ พร้อมทั้งเครื่องมือในการทำวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณพี่ๆ ในห้องปฏิบัติการ SCRU ทุกท่านที่ให้ความรู้เกี่ยวกับเทคนิคต่างๆ การดูแลรักษาเครื่องมือ และเอื้อเฟื้ออุปกรณ์จำเป็น รวมถึงให้กำลังใจเสมอมา

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องในภาควิชาเคมี ที่สละเวลามาเป็นกลุ่มตัวอย่างในการทดสอบวิธีทดลอง

ขอขอบคุณโครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้

สารบัญ

บทคัดย่อ ..... ง

Abstract ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญรูป ..... ฌ

สารบัญตาราง ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย 2

1.3 ทฤษฎีและแนวความคิดที่นำมาใช้ในงานวิจัย 2

1.3.1 อัญชัน (Blue pea, Butterfly pea) 2

1.3.2 แอนโทไซยานิน (anthocyanins) 2

1.3.3 จลนพลศาสตร์เคมี (chemical kinetics) 3

1.3.4 โปรแกรม imageJ 8

1.3.5 แนวความคิดและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 8

1.4 ประโยชน์ที่จะได้จากการวิจัย 9

บทที่ 2 การทดลอง 10

2.1 รายการเครื่องมือและอุปกรณ์ 10

2.2 รายการสารเคมี 10

2.3 วิธีการทดลอง 10

2.3.1 การเตรียมสารละลาย 10

2.3.2 การวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโทรนิก (spectronic) 21 11

2.3.3 ศึกษาอันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน 12

2.3.4 ศึกษาจลนพลศาสตร์ของสีจากธรรมชาติสำหรับการเรียนการสอนเคมีทั่วไป 1 13

บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง 16

3.1 ศึกษาอันดับของปฏิกิริยารีดอกซ์ของสีจากธรรมชาติ 17

3.1.1 หาความยาวคลื่นที่เหมาะสมต่อการศึกษาอันดับปฏิกิริยารีดอกซ์ 17

3.1.2 การศึกษาอันดับปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินที่ความเข้มข้นต่างๆ 17

3.1.3 การศึกษาอันดับปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเมื่อใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ 23
3.1.4 การศึกษาอันดับปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเมื่อใช้คอปเปอร์(II) ซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ 26
3.2 ศึกษาจลนพลศาสตร์ของสีจากธรรมชาติสำหรับการเรียนการสอนเคมีทั่วไป 1 29
3.2.1 การติดตามปฏิกิริยาโดยใช้โปรแกรม ImageJ 29
3.2.2 ติดตามปฏิกิริยาจากสีที่เปลี่ยนแปลงโดยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี 30
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง 34
เอกสารอ้างอิง 35
ประวัติผู้วิจัย 37

สารบัญรูป

รูปที่ 1 ดอกอัญชัน (blue pea, butterfly pea)....2
รูปที่ 2 โครงสร้างของแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) 3
รูปที่ 3 กำหนดสี่เหลี่ยม 14
รูปที่ 4 ค่าของ grey scale.... 14
รูปที่ 5 ค่าของ RGB.... 14
รูปที่ 6 แมสสเปกตรัม (mass spectrum) ของผงสกัดจากดอกอัญชัน.... 16
รูปที่ 7 การดูดกลืนแสงของสารละลายแอนโทไซยานินเจือจาง 10 – 30 เท่า.... 17
รูปที่ 8 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.9 เมื่อใช้ H_2O_2 3%: a) เมื่อใช้ข้อมูลจากค่าการดูดกลืนแสง A และ b) เมื่อใช้ข้อมูลจากค่า %A 20
รูปที่ 9 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.7 เมื่อใช้ H_2O_2 3% 21
รูปที่ 10 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.6 เมื่อใช้ H_2O_2 3% 21
รูปที่ 11 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.4 เมื่อใช้ H_2O_2 3% 22
รูปที่ 12 แสดงการหา $t_{1/2}$ จากการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงที่เวลาต่างๆ 22
รูปที่ 13 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.6-0.7 เมื่อใช้ H_2O_2 10% 25
รูปที่ 14 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.6-0.7 เมื่อใช้ H_2O_2 15% 25
รูปที่ 15 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.6-0.7 เมื่อใช้ H_2O_2 24% 26
รูปที่ 16 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.6-0.7 เมื่อใช้ H_2O_2 3% และ $CuSO_4$ 0.01 M.... 28
รูปที่ 17 การดูดกลืนแสงซองแอนโทไซยานิน A0.6-0.7 ที่ลดลง เมื่อใช้ H_2O_2 3% และเติม $CuSO_4$ 0.01, 0.02, 0.03 และ 0.05 M 28
รูปที่ 18 ภาพถ่ายการติดตามปฏิกิริยาที่เวลาต่างๆ 29
รูปที่ 19 อันดับของปฏิกิริยาของของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเมื่อใช้ค่าสี B.... 30
รูปที่ 20 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเข้มเข้น 0.0713 g/25 mL เมื่อใช้ H_2O_2 3% และ $CuSO_4$ 0.03 M.... 31
รูปที่ 21 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเข้มข้น 0.715 g/250 mL เมื่อใช้ H_2O_2 3% และ $CuSO_4$ 0.03 M.... 32

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 ชนิดของแอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidins)..3
ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลา..7
ตารางที่ 3 สรุปความเข้มข้นและปริมาณสารที่ใช้ในการทดลอง..13
ตารางที่ 4 สมการเส้นตรงและค่า R^2 ของการศึกษาอันดับปฏิกิริยาแบบต่างๆ เมื่อใช้ H_2O_2 3% ของ A0.9, A0.7, A0.6 และ A0.4..19
ตารางที่ 5 สมการเส้นตรงและค่า R^2 ของการศึกษาอันดับปฏิกิริยาแบบต่างๆ ของ A0.6-0.7 เมื่อใช้ H_2O_2 3%, 10%, 15% และ 24%..24
ตารางที่ 6 เวลาที่ใช้จนค่าการดูดกลืนแสงคงที่ ค่า R^2 ของปฏิกิริยาอันดับต่างๆ และสมการเส้นตรง ค่า k และ $t_{1/2}$ ของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เมื่อใช้สารละลาย A0.6-0.7 H_2O_2 3% และ $CuSO_4$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ..27
ตารางที่ 7 เวลาที่ใช้จนค่าการดูดกลืนแสงคงที่ ค่า R^2 ของปฏิกิริยาอันดับต่างๆและสมการเส้นตรง ค่าคงที่อัตรา และ ครึ่งชีวิตของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ของกลุ่มตัวอย่าง..33

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

คู่มือปฏิบัติการเคมีทั่วไป 1[1] สำหรับนิสิตวิทยาศาสตร์ชั้นปีที่ 1 ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย บรรจุการทดลองจลนพลศาสตร์เรื่อง "การศึกษาทางจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาสำหรับการวิเคราะห์ระดับแอลกอฮอล์ในลมหายใจ" โดยใช้สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) เป็นสารตั้งต้น ซึ่งสามารถติดตามการเกิดปฏิกิริยาได้จากการวัดการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไปโดยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ผ่านเครื่องสเปกโทรนิก (spectronic) 21 อย่างไรก็ตามสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตมีโครเมียม(VI) ซึ่งเป็นโลหะหนัก มีความเป็นพิษต่อร่างกาย เป็นตัวออกซิไดส์ที่แรง ทำให้เกิดแผลไหม้และการอักเสบบนผิวหนังเมื่อสัมผัสสาร รวมทั้งก่อให้เกิดอาการแพ้และระคายเคืองต่อดวงตา เมื่อกลืนกินจะส่งผลอย่างรุนแรงต่อระบบทางเดินอาหาร เช่น ถ่ายเป็นเลือด อาเจียน ชัก หมดสติ เมื่อสูดดมจะก่อให้เกิดอาการแพ้และระคายเคืองระบบทางเดินหายใจ[2-3] ของเสียที่มีโครเมียม(VI) เป็นองค์ประกอบ ได้รับการจัดประเภทเฉพาะ โดยจัดเป็นของเสียประเภทที่ V ตามระบบ wastetrack[4] ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในแต่ละปีภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีนิสิตวิทยาศาสตร์ชั้นปีที่ 1 ที่เรียนปฏิบัติการเคมีทั่วไป ประมาณ 800 คน[5] ดังนั้นในการเตรียมสารสำหรับทำการทดลองจลนพลศาสตร์นี้ จึงทำให้เกิดของเสียที่ต้องกำจัดและเสียค่าใช้จ่ายทั้งหมดประมาณ 24 ลิตรต่อปี

ปัจจุบันการใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติและข้อกังวลเรื่องการปนเปื้อนของสารเคมีในแหล่งธรรมชาติเป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างสูง เนื่องจากการปนเปื้อนของสารเคมีส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์และสิ่งแวดล้อม อีกทั้งผู้บริโภคยังให้ความสำคัญกับการรักษาสุขภาพมากขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะสีย้อมธรรมชาติได้จากพืช สัตว์ และแร่ธาตุที่เกิดขึ้นจากกระบวนการตามธรรมชาติ[6] สีย้อมธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด เช่น คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) แคโรทีนอยด์ (carotenoid) แอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นต้น แอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นรงควัตถุที่มีสีแดง ม่วง และน้ำเงิน พบมากในผัก ผลไม้ ดอกไม้ เช่น กระเจี๊ยบ หอมแดง อัญชัน เป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ มีการเปลี่ยนแปลงสีที่ขึ้นกับค่าความเป็นกรด-ด่าง[7-8] สีย้อมจากแอนโทไซยานินใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย เนื่องจากส่งผลกระทบด้านสิ่งแวดล้อมน้อย ย่อยสลายทางชีวภาพได้ ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาการทดลองทางจลนพลศาสตร์โดยใช้สีย้อมจากธรรมชาติ โดยใช้รงควัตถุเป็นแอนโทไซยานินที่สกัดจากดอกอัญชันซึ่งมีแพร่หลายในประเทศไทย มาเป็นสารตั้งต้นแทนสารประกอบโครเมียม เพื่อลดปริมาณของเสียและป้องกันการปนเปื้อนของสารเคมีในแหล่งธรรมชาติ

1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย

ออกแบบการทดลองจลนพลศาสตร์โดยอาศัยสีย้อมจากธรรมชาติที่ย่อยสลายได้และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเพื่อใช้ในการเรียนการสอนปฏิบัติการเคมีสำหรับนิสิตชั้นปีที่ 1

1.3 ทฤษฎีและแนวความคิดที่นำมาใช้ในงานวิจัย

1.3.1 อัญชัน (Blue pea, Butterfly pea)

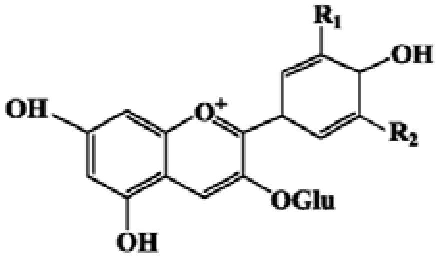
อัญชัน มีชื่อเรียกตามท้องถิ่นได้แก่ แดงชัน เอื้องชัน หญ้าลินจัน มีชื่อสามัญว่า butterfly pea และมีชื่อทางวิทยาสตร์ว่า Clitoria ternatea L. อยู่ในวงศ์ Leguminosae มีแหล่งกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีลักษณะเป็นพันธุ์ไม้เลื้อย เป็นพืชที่ขึ้นง่าย ขึ้นได้ดีในดินร่วน มีความต้านทานและเข้ากับสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติได้ดี ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด ลำต้นมีสีเขียวมีขนอ่อน ใบเป็นใบย่อยรูปไข่ ออกดอกตลอดปี ดอกเป็นดอกเดี่ยว กลีบดอกอัญชันสะสมแอนโทไซยานินหลายชนิด เฉพาะที่มีการรายงานว่าพบมากในกลีบดอกอัญชันสีน้ำเงิน คือเทอนาทิน (ternatins) ซึ่งเป็น (poly)acylated delphinidin glucoside เป็นสารหนึ่งในกลุ่มแอนโทไซยานิน ดอกอัญชันสีม่วง สีฟ้าและสีขาวมีสารแอนโทไซยานินต่างปริมาณและต่างชนิด แต่ดอกอัญชันสีน้ำเงินในรูปที่ 1 ที่มีกลีบดอกเดี่ยวหรือดอกซ้อนมีชนิดของสารสำคัญไม่แตกต่างกัน

รูปที่ 1 ดอกอัญชัน (blue pea, butterfly pea)

1.3.2 แอนโทไซยานิน (anthocyanins)

แอนโทไซยานิน มาจากรากศัพท์เดิมของกรีก คือ anthos หมายถึง ดอกไม้ และ kyanos หมายถึง สีน้ำเงิน แอนโทไซยานินจึงหมายถึงดอกไม้สีน้ำเงิน แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ละลายอยู่ใน vaculo sap ในเซลล์ของพืช มีบทบาทต่อสีในดอกไม้ ผลไม้ และใบไม้หลายชนิด เป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ (water-soluble pigments) แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายประเภท non-hydroxyl เช่น acetone benzene chloroform และ ether จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สีของแอนโทไซยานินเปลี่ยนแปลงไปตามความเป็นกรด-ด่าง โดยมีสีน้ำเงินเข้มในภาวะที่เป็นเบส (pH มากกว่า 7) มีสีม่วงเมื่อเป็นกลาง (pH 7) และมีสีแดงส้มในภาวะที่เป็นกรด (pH น้อยกว่า 7)[9] ปัจจุบันมีรายงาน

การพบแอนโทไซยานินมากกว่า 300 ชนิด ซึ่งมีสีสันและสมบัติที่แตกต่างกัน แต่ทุกชนิดมีโครงสร้างหลักเป็นสารเดียวกันคือ แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) ที่ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม จัดเรียงเป็น 3 วง ดังรูปที่ 2 ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ของ 2-phenylbenzopyrylium หรือ flavylium cation แอนโทไซยานิดินมีอยู่ประมาณ 20 ชนิด แต่พบได้บ่อยในพืช 6 ชนิด คือ cyanidin (Cy) พบประมาณ 30% delphinidin (Dp) พบได้ 22% pelargonidin (Pg) 18% และ peonidin (Pn) petunidin (Pt) และ malvidin (Mv) รวมกัน 20% ความแตกต่างที่สำคัญของแอนโทไซยานินแต่ละตัวต่างกันที่หมู่ไกลโคไซด์และชนิดของกรดอินทรีย์ของหมู่ไกลโคไซด์[9] ดังแสดงในตารางที่ 1 ชนิดของแอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidins)



รูปที่ 2 โครงสร้างของแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)

ตารางที่ 1 ชนิดของแอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidins)

ชนิดanthocyanidin	ตำแหน่ง R_1	ตำแหน่ง R_2	ปริมาณที่พบในธรรมชาติ
cyanidin	-H	-OH	30%
delphinidin	-OH	-OH	22%
pelargonidin	-H	-H	18%
peonidin	$-OCH_3$	-H	รวมกัน 20%
petunidin	$-OCH_3$	-OH	
malvidin	$-OCH_3$	$-OCH_3$	

1.3.3 จลนพลศาสตร์เคมี (chemical kinetics)

อัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมี

อัตราการเกิดปฏิกิริยา คือ การเปลี่ยนแปลงความเขมขนของสารตั้งต้นหรือสารผลิตภัณฑ์ต่อหน่วยเวลา เขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$\text{อัตราการเกิดปฏิกิริยา} = \frac{\text{ปริมาณสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น}}{\text{เวลา}}$$

หรือ

$$\text{อัตราการเกิดปฏิกิริยา} = \frac{\text{ปริมาณสารตั้งต้นที่ลดลง}}{\text{เวลา}}$$

พิจารณาปฏิกิริยาระหว่างสารตั้งต้น A กับ B เกิดสารผลิตภัณฑ์ C และ D ดังสมการ

$$aA + bB \longrightarrow cC + dD$$

เมื่อ a, b, c และ d คือ เลขสัมประสิทธิ์แสดงจำนวนโมลของสาร A, B, C และ D ตามลำดับ

การทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยามีค่าเท่ากันเสมอไม่ว่าจะศึกษาจากสารใดที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยา ทำได้โดยนำสัมประสิทธิ์จำนวนโมลของสารมาหาร ดังนี้

$$\text{อัตราการเกิดปฏิกิริยา} = -\frac{1}{a}\frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b}\frac{d[B]}{dt} = \frac{1}{c}\frac{d[C]}{dt} = \frac{1}{d}\frac{d[D]}{dt}$$

อิทธิพลที่มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา (influences on raction rate)

ปฏิกิริยาเคมีต่างๆ เกิดได้เร็วช้าต่างกัน แม้แต่ปฏิกิริยาเดียวกันถ้าเกิดภายใต้สภาวะที่ต่างกันก็มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาแตกต่างกัน ขึ้นกับปัจจัยต่างๆ คือ

a) ธรรมชาติของสารตั้งต้น (nature of reaction)

สารแต่ละชนิดมีสมบัติในการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่ต่างกัน ทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาไม่เท่ากัน

b) ธรรมชาติของตัวทำละลาย (nature of solvents)

ปฏิกิริยาที่เกิดในสารละลาย สมบัติของตัวทำละลาย เช่น ความหนืด หรือสมบัติทางเคมีบางประการก็จะมีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาด้วย

c) ความเข้มข้น (concentration) หรือ ความดัน (pressure) กรณีที่มีสถานะเป็นแก๊ส

ปฏิกิริยาที่สารตั้งต้นมาก โมเลกุลมีการชนกันเพิ่มขึ้นทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น

d) อุณหภูมิ (temperature)

การเพิ่มอุณหภูมิทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นโดยทั่วไปการเพิ่มอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นประมาณ 2 เท่า

e) ตัวเร่งปฏิกิริยา (catalysts)

ตัวเร่งปฏิกิริยาช่วยให้พลังงานก่อกัมมันต์ลดลงทำให้ปฏิกิริยาเกิดได้ง่าย เป็นการเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยา

f) พื้นผิวของสาร (surface area)

สารตั้งต้นที่เป็นของแข็งปฏิกิริยาจะเกิดที่พื้นผิวของสาร ดังนั้นถ้าสารมีพื้นที่ผิวมากหรืออนุภาคมีขนาดเล็กปฏิกิริยาจะเกิดได้เร็วขึ้น

กฎอัตรา (rate law)

กฎอัตรา คือ ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเกิดปฏิกิริยากับความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่เกิดปฏิกิริยา แสดงได้ 2 แบบ คือ

a) กฎอัตราดิฟเฟอเรนเชียล (differential rate law)

จากปฏิกิริยา $aA + bB \longrightarrow cC + dD$

ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มตามไปด้วย กล่าวคือ

$$R \propto [A]\,[B]$$

ซึ่งเขียนในรูปทั่วไปได้เป็น $R = k\,[A]^p\,[B]^q$

เมื่อ R = อัตราการเกิดปฏิกิริยาในรูปดิฟเฟอเรนเชียลของความเข้มข้นของสารตั้งต้นหรือผลิตภัณฑ์

$$= -\frac{1}{a}\frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b}\frac{d[B]}{dt} = \frac{1}{c}\frac{d[C]}{dt} = \frac{1}{d}\frac{d[D]}{dt}$$

เมื่อ k คือ ค่าคงที่อัตราของปฏิกิริยา (rate constant) ซึ่งมีหน่วยเป็น $[\text{ความเข้มข้น}]^{1-n}\,[\text{เวลา}]^{-1}$

p คือ อันดับปฏิกิริยา (order of reaction) เมื่อเทียบกับ [A], q คือ อันดับปฏิกิริยาเมื่อเทียบกับ [B]

และ p+q คือ อันดับรวมของปฏิกิริยา

ดังนั้นกฎอัตราดิฟเฟอเรนเชียลในรูปการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารใดสารหนึ่งโดยเฉพาะสารตั้งต้น ที่มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา คือ

$$-\frac{1}{a}\frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b}\frac{d[B]}{dt} = k\,[A]^p\,[B]^q$$

b) กฎอัตราอินทิเกรต (integration rate law)

กฎอัตราอินทิเกรต คือความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารตั้งต้นกับเวลา ซึ่งได้มาจากการอินทิเกรตกฎอัตราดิฟเฟอเรนเชียล ดังนั้นกฎอัตราอินทิเกรตจึงมีประโยชน์ในการคำนวณหาปริมาณสารต่างๆ ในปฏิกิริยา ณ เวลาต่างๆ และครึ่งชีวิต เป็นต้น

- อันดับปฏิกิริยา (order of reaction)

อันดับปฏิริยา เป็นค่าตัวเลขใดๆ อาจเป็นจำนวนเต็ม หรือเศษส่วนก็ได้ ซึ่งหาได้จากการทดลองหาอัตราการเกิดปฏิกิริยาเมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของสารตั้งต้นเท่านั้น เป็นเลขที่บอกให้ทราบว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารตั้งต้นตัวนั้นหรือไม่ และเป็นจำนวนกี่เท่าของความเข้มข้น และเรียกผลรวมของ p กับ q ว่าอันดับปฏิกิริยารวม

- ครึ่งชีวิต (half life)

ครึ่งชีวิต คือ ระยะเวลาที่ทำให้ความเข้มข้นของสารตั้งต้นลดลงครึ่งหนึ่งจากความเข้มข้นเริ่มต้นหรือจากเวลาเริ่มที่สนใจ ครึ่งชีวิตของสารใดๆ ของปฏิกิริยาหนึ่งๆ อาจเป็นค่าคงที่ หรือขึ้นกับความเข้มข้นเริ่มต้นของสารนั้น ทั้งนี้ขึ้นกับอันดับของปฏิกิริยา และอันดับรวมของปฏิกิริยา

ปฏิกิริยาอันดับต่างๆ

i) ปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (zero-order reaction)

พิจารณาปฏิกิริยา aA ⟶ products

$$R = -\frac{d[A]}{dt} = k[A]^0 = k$$

$$d[A] = -kdt$$

อินทเกรตจะได้ $[A] = -kt + [A]_0$ (1)

ซึ่งสมการ (1) คือ กฎอัตราอินทิเกรตที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารตั้งต้นและเวลา และเมื่อสร้างกราฟระหว่าง [A] และ t จะได้กราฟเส้นตรงที่มีความชันเป็น −k

สำหรับการหาค่าครึ่งชีวิตโดยอาศัยสมการ (1) เมื่อแทนค่า $[A] = [A]_0/2$ และ $t = t_{1/2}$ จะได้

$$t_{1/2} = \frac{[A]_0}{2k}$$

ซึ่งแสดงว่าครึ่งชีวิตของปฏิกิริยาอันดับศูนย์ขึ้นกับความเข้มข้นของสารที่จุดเริ่มต้น

ii) ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (1^{st}-order reaction)

พิจารณาปฏิกิริยา aA ⟶ products

$$R = -\frac{d[A]}{dt} = k[A]$$

$$\frac{d[A]}{[A]} = -kdt$$

อินทเกรตจะได้ $\ln[A] = -kt + \ln[A]_0$ (2)

เมื่อสร้างกราฟระหว่าง ln[A] และ t จะได้กราฟเส้นตรงที่มีความชันเป็น −k

สำหรับการหาค่าครึ่งชีวิตโดยอาศัยสมการ (2) จะได้

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} = \frac{0.069}{k}$$

ซึ่งแสดงว่าครึ่งชีวิตของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งเป็นค่าคงที่และไม่ขึ้นกับความเข้มข้นเริ่มต้น

iii) ปฏิกิริยาอันดับสอง (2^{nd}-Order Reaction)

พิจารณาปฏิกิริยา aA ⟶ products

$$R = -\frac{d[A]}{dt} = k[A]^2$$

$$d[A]/[A]^2 = -kdt$$

อินทเกรตจะได้ $1/[A] = kt + 1/[A]_0$ (3)

เมื่อสร้างกราฟระหว่าง 1/[A] และ t จะได้กราฟเส้นตรงที่มีความชันเป็น k

สำหรับการหาค่าครึ่งชีวิต จะได้

$$t_{1/2} = \frac{1}{k\,[A]_0}$$

ซึ่งแสดงว่าครึ่งชีวิตของปฏิกิริยาอันดับสองขึ้นกับความเข้มข้นของสารที่จุดเริ่มต้น

การติดตามความเข้มข้นของสารที่เกี่ยวข้องในปฏิกิริยาทำได้หลายวิธี ขึ้นกับชนิดของสาร และอุปกรณ์ที่มี สำหรับสารที่ดูดกลืนแสงได้ สามารถใช้ค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารตามกฎของเบียร์ (Beer’s law) มาใช้ติดตามการเกิดปฏิกิริยาได้

กฎของเบียร์ (Beer’s law) แสดงความสัมพันธ์ดังนี้

$$A = \varepsilon l c$$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance), ε = ค่า molar absorptivity ($L mol^{-1} cm^{-1}$)

l = เป็นความหนาของตัวกลางที่แสงผ่าน (cm), c = เป็นความเข้มข้นของสารดูดกลืน (mol/L)

เมื่อแทนค่า [A] และ $[A]_0$ ในรูปของค่าการดูดกลืนแสง (A_0, A_t) จะได้ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาดังนี้

ปฏิกิริยาอันดับศูนย์: $A_t = A_0 - k(\varepsilon l)t$

ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง: $\ln A_t = \ln A_0 - k(\varepsilon l)t$

ปฏิกิริยาอันดับศูนย์: $\frac{1}{A_t} = (k/\varepsilon l)t + A_0$

ซึ่งรวบรวมรายละเอียดสำคัญของปฏิกิริยาอันดับต่างๆ ได้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลา

อันดับของปฏิกิริยา	Intergrated rate law	กราฟเส้นตรง แกน y แกน x	ครึ่งชีวิต
0	$A_t = A_0 - k(\varepsilon l)\, t$	A_t กับ t	$t_{1/2} = [A]_0/2k$
1	$\ln A_t = \ln A_0 - k(\varepsilon l)\, t$	$\ln A_t$ กับ t	$t_{1/2} = \ln 2/k$
2	$1/A_t = (k/\varepsilon l)\, t + A_0$	$1/A_t$ กับ t	$t_{1/2} = 1/k[A]_0$

การทดลองเพื่อหาอันดับปฏิกิริยาแบบ flooding method

พิจารณาปฏิกิริยา $A + B \longrightarrow \text{products}$

$$R = -\frac{d[A]}{dt} = k\,[A]^p\,[B]^q$$

เห็นได้ว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยา R อาจขึ้นกับความเข้มข้นของทั้งสาร A และ B เพื่อให้การหาอันดับปฏิกิริยาเทียบกับสารใดสารหนึ่งง่ายขึ้น เช่น ในการศึกษาอันดับของปฏิกิริยาเมื่อเทียบกับสาร A หากทำให้ความเข้มข้นของ B

นั้นสูงมากเมื่อเทียบกับ A (x100 หรือมากกว่า) จะทำให้การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสาร B น้อยมาก หรือ A คือ limiting agent ของปฏิกิริยานั่นเอง

	A	+ B	⟶ products
initial:	$[A]_o$	$100[A]_o=[B]_o$	0
change:	$-[A]_o$	$-[A]_o$	$[A]_o$
final:	0	(100−1) [A]o	[A]o

จากการคำนวณข้างต้น แสดงให้เห็นว่าในการทำปฏิกิริยาใช้เพียง 1% ของความเข้มข้นของ B เริ่มต้น ในขณะที่ใช้ A หมด ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าความเข้มข้นของ B นั้นไม่ได้เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ หรือ $B = B_0$ นั่นเอง ส่งผลให้เขียนอัตราการเกิดปฏิกิริยาใหม่ได้เป็น

$$R = k' [A]^p$$

เมื่อ $k' = k [B]^q$

การทำปฏิกิริยาโดยใช้สารใดสารหนึ่งมากกว่าสารที่สนใจนี้ เรียกว่า flooding method ทำให้การหาอันดับปฏิกิริยาเมื่อเทียบกับสารที่สนใจทำได้สะดวกขึ้น

1.3.4 โปรแกรม imageJ

imageJ เป็นโปรแกรมที่ได้รับการพัฒนาโดย Wayne Rasband และ The National Institute of Health (NIH) ประเทศสหรัฐอเมริกา[10] เพื่ออำนวยความสะดวกในการวิเคราะห์ข้อมูลจากรูปภาพ เช่น การนับจำนวนเซลล์ที่ได้จากภาพถ่าย การหาพื้นที่ของวัตถุ คำนวณพื้นที่และปริมาณพิกเซลตามการเลือกพื้นที่ของผู้ใช้ โดยสามารถเลือกขนาดภาพถ่าย 8, 16 และ 32 บิต รวมถึงเลือกสกุลไฟล์ภาพที่นำมาวิเคราะห์ได้ อาทิเช่น DICOM, JPEG, TIFF, GIF, BMP, FITS และ Raw

1.3.5 แนวความคิดและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Ozkan และคณะ[11] ได้ศึกษาจลนพลศาสตร์ของการสลายตัวของแอนโทไซยานินในน้ำเชอรี่ ทับทิม และสตรอเบอรี่ โดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีความเข้มข้นต่างกัน และจากการศึกษาจลนพลศาสตร์เป็นปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง เมื่อเปรียบเทียบ $t_{1/2}$ พบว่า เชอรี่มีความทนทานต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มากที่สุด รองลงมาคือ ทับทิม และสตรอเบอรี่ตามลำดับ

Nikkhah และคณะ[12] ศึกษาผลของกรดแอสคอร์บิคและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อความเสถียรของเม็ดสีแอนโทไซยานินในผลเบอร์รี่ 3 ชนิด พบว่าการย่อยสลายของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นและความเข้มของสีลดลงเมื่อความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น

Sun และคณะ[13] ทำการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการสลายตัวของ Pelargonidin-3-glucoside ซึ่งเป็นหนึ่งในชนิดของแอนโทไซยานิดิน โครงสร้างหลักของแอนโทไซยานินกับ hydroxyl radical จากการศึกษาพบว่า การสลายตัวของแอนโทไซยานินสอดคล้องกับปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

Sondheimer และ Kertesz[14] ได้ศึกษาจลนศาสตร์ของแอนโทไซยานินที่เตรียมจากสตรอเบอรี่ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ทำการทดลองโดยใช้ความเข้มข้นของแอนโทไซยานินและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีความเข้มข้นต่างกัน และจากการศึกษาพบว่าเป็นปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง

คู่มือปฏิบัติการเคมีทั่วไป 1[1] ได้ออกแบบการทดลองออกแบบการทดลองจลนพลศาสตร์โดยใช้สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) ในกรดซัลฟิริก (H_2SO_4) ทำปฏิกิริยากับเอทานอล (CH_3CHO) ซึ่งการทดลองจะใช้ความเข้มข้นของ CH_3CHO และ H_2SO_4 สูงกว่าความเข้มข้นของ $K_2Cr_2O_7$ มากๆ ดังนั้นจึงถือว่าความเข้มข้นของเอทานอลและกรดเปลี่ยนแปลงน้อยมาก จนสามารถให้ความเข้มข้นทั้งสองนี้คงที่ตลอดการเกิดปฏิกิริยา จากนั้นติดตามความเข้มข้นของ $K_2Cr_2O_7$ ที่เปลี่ยนแปลงไปในระยะเวลาหนึ่งๆ จากค่าการดูดกลืนแสงที่วัดโดยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ผ่านเครื่องสเปกโทรนิก 21

1.4 ประโยชน์ที่จะได้จากการวิจัย

ได้วิธีการทดลองจลนพลศาสตร์โดยใช้ปฏิกิริยาการสลายตัวของสีย้อมจากธรรมชาติซึ่งย่อยสลายได้และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ซึ่งอาจนำไปใช้ในวิชาปฏิบัติการเคมีทั่วไป 1 ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยได้

บทที่ 2
การทดลอง

2.1 รายการเครื่องมือและอุปกรณ์

1. UV-visible spectrophotometer, Hewlett Packard
2. เครื่องสเปกโทรนิก 21
3. ขวดใส่สาร (vial) ขนาด 10 mL
4. คิวเวต (cuvet)
5. หลอดทดลอง
6. เข็มฉีดยาขนาด 1 mL
7. บิวเรตขนาด 50 mL

2.2 รายการสารเคมี

1. ผงสกัดจากดอกอัญชัน จากบริษัท AP OPERATIONS CO., LTD, Thailand
2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เข้มข้น 30%
3. คอปเปอร์ (II) ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1 การเตรียมสารละลาย

สารละลายแอนโทไซยานิน

สารละลายแอนโทไซยานินตั้งต้น A (stock A)

โดยการชั่งผงสกัดจากดอกอัญชัน 0.143 g ใส่ในภาชนะขนาด 5 mL ละลายสารและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

สารละลายเข้มข้นเท่ากันนี้ ยังอาจเตรียมได้ในอัตราส่วนผงสกัดต่อน้ำในปริมาตรเดียวกัน เช่น การชั่งผงสกัดจากดอกอัญชัน 1.43 g ใส่ในใส่ในภาชนะขนาด 50 mL

สารละลายแอนโทไซยานินขั้นกลาง

เจือจางสารละลายสต็อกA เพื่อนำไปเตรียมสารละลายสำหรับการศึกษาจลนพลศาสตร์ของแอนโทไซยานินให้มีค่าดูดกลืนแสงตั้งต้นที่เวลา A_0 ตามต้องการ ดังนี้

1) สารละลายขั้นกลาง I1 – I4

สารละลายขั้นกลาง I1 เตรียมได้โดยปิเปตสารละลายจากสต็อก A 5 mL ใส่ในภาชนะขนาด 25 mL แล้วปรับปริมาตร เมื่อปิเปตสารละลายนี้ 4.5 mL ปรับปริมาตรเป็น 5 mL จะได้สารละลายแอนโทไซยานิน A0.9 ซึ่งเป็นสารละลายที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่เลือกใช้ประมาณ 0.9

ในทำนองเดียวกัน สารละลายขั้นกลาง I2, I3 และ I4 เตรียมโดยปิเปตสารละลายสต็อกปริมาตร 3.2, 3 และ 2 mL ใส่ในภาชนะขนาด 25 mL แล้วปรับปริมาตร เมื่อปิเปตสารละลายนี้ 4.5 mL ปรับปริมาตรเป็น 5 mL จะได้สารละลายแอนโทไซยานิน A0.7, A0.6 และ A0.4 ตามลำดับ

2) สารละลายขั้นกลาง I5 – I7

สารละลายขั้นกลาง I5 – I7 เตรียมโดยปิเปตสารละลายสต็อก A ปริมาตร 3.7, 5 และ 12 mL ตามลำดับ ใส่ในภาชนะขนาด 25 mL แล้วปรับปริมาตร เมื่อปิเปตสารละลายนี้ปริมาตร 3.5, 2.5 และ 1 mL ปรับปริมาตรเป็น 5 mL ตามลำดับ จะได้สารละลายแอนโทไซยานิน A0.6

ทั้งนี้สามารถสรุปปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียมสารละลายขั้นกลาง ดังแสดงด้านล่าง

สารละลายขั้นกลาง	ปริมาตรของสต็อก A ใน 25 mL (mL)	ปริมาตรของสารละลายขั้นกลาง ใน 5 mL (mL)	ความเข้มข้นของแอนโทไซยานินสุดท้าย
I1	5	4.5	A0.9
I2	3.2	4.5	A0.7
I3	3	4.5	A0.6
I4	2	4.5	A0.4
I5	3.7	3.5	A0.6
I6	5	2.5	A0.6
I7	12	1	A0.6

เตรียมสารละลายคอปเปอร์ (II) ซัลเฟต ($CuSO_4$)

เตรียมสารละลายคอปเปอร์ (II) ซัลเฟต ($CuSO_4$) เข้มข้นใกล้เคียง 0.1 M โดยชั่ง $CuSO_4$ 0.187 g ใส่ในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 25 mL ละลายสารอย่างสมบูรณ์และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นเจือจางสารด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 0.01 0.03 และ 0.05 M โดยเจือจางให้มีปริมาตรเป็น 5 mL

2.3.2 การวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโทรนิก (spectronic) 21

บรรจุน้ำกลั่นลงในคิวเวตที่สะอาดและแห้งประมาณ 2/3 ของหลอด นำไปปรับค่าการดูดกลืนแสงของเครื่องสเปกโทรนิก 21 ที่ความยาวคลื่นที่ต้องการให้เป็นศูนย์ ชะคิวเวตด้วยสารละลายที่ต้องการวัดการดูดกลืนแสงเล็กน้อยเททิ้ง แล้วเติมสารละลายที่ต้องการวัดการดูดกลืนแสงลงในคิวเวตประมาณ 2/3 ของหลอด เช็ดคิวเวตเพื่อกำจัดรอยนิ้วมือ บรรจุคิวเวตลงในเครื่องสเปกโทรนิก 21 บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ต้องการ

สำหรับการศึกษาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน ใช้สารละลายแอนโทไซยานินที่ไม่มีการเติมไฮโดรเจนเปอร์ไซด์เป็นสารละลายแบลงก์ วัดค่าการดูดกลืนแสงเป็นค่าที่เวลาเริ่มต้น (A_0) จากนั้นเปลี่ยนใช้สารละลายผสมของแอนโทไซยานินและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่เวลาต่างๆ ทุก 30 วินาที (A_t) จนค่าการดูดกลืนแสงคงที่

2.3.3 ศึกษาอันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน

ความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการศึกษาอันดับปฏิกิริยารีดอกซ์

นำสารละลายแอนโทไซยานินที่เตรียมไว้ไปเจือจางด้วยน้ำ และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer เพื่อหาความยาวคลื่นที่สารดูดกลืนแสงได้มากที่สุด (λ_{max})

การศึกษาอันดับปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินที่ความเข้มข้นต่างๆ

ปิเปตสารละลายแอนโทไซยานินสารละลายขั้นกลาง I2 – I4 ปริมาตร 4.5 mL ใส่ในหลอดทดลองจำนวน 2 หลอด หลอดที่ 1 เตรียมเป็นสารละลายแบลงก์ (ไม่มีตัวออกซิไดส์) โดยเติมน้ำกลั่น 0.5 mL สำหรับหลอดที่ 2 เติม H_2O_2 30% 0.5 มิลลิลิตร เพื่อให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 3% จับเวลาตั้งแต่เริ่มเติม H_2O_2 คนสารละลายให้เข้ากัน นำไปวัดการดูดกลืนแสง นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟเพื่อหาอันดับปฏิกิริยา ทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

การศึกษาอันดับปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเมื่อใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

1) ปิเปตสารละลายแอนโทไซยานินจากขั้นกลาง I3 ปริมาตร 4.5 mL ใส่ในหลอดทดลอง จำนวน 2 หลอด เติมน้ำกลั่น 0.5 mL ในหลอดที่ 1 เพื่อเตรียมสารละลายแบลงก์ เติม H_2O_2 30% 0.5 mL สำหรับหลอดที่ 2 เพื่อให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 3% จับเวลาตั้งแต่เริ่มเติม H_2O_2 คนสารละลายให้เข้ากัน นำไปวัดการดูดกลืนแสงตาม สร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์จากข้อมูลที่ได้เพื่อหาอันดับปฏิกิริยา ทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง
2) ทำการทดลองตามข้อ 1) แต่เปลี่ยนเป็นปิเปตสารละลายแอนโทไซยานินขั้นกลาง I5 ปริมาตร 3.5 mL และเติมน้ำหรือ H_2O_2 30% 1.5 mL ได้ปริมาตรรวมเป็น 5 mL และความเข้มข้นสุดท้ายของ H_2O_2 9%
3) ทำการทดลองตามข้อ 1) โดยใช้สารละลายแอนโทไซยานินจากสารละลายขั้นกลาง I6 ปริมาตร 2.5 mL และเติมน้ำหรือ H_2O_2 30% 2.5 mL ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของ H_2O_2 15%
4) ทำการทดลองตามข้อ 1) โดยใช้สารละลายแอนโทไซยานินจากสารละลายขั้นกลาง I7 ปริมาตร 1.0 mL และเติมน้ำหรือ H_2O_2 30% 4.0 mL ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของ H_2O_2 24%

การศึกษาอันดับปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเมื่อใช้คอปเปอร์(II) ซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ

1) ปิเปตสารละลายแอนโทไซยานินที่มีค่าการดูดกลืนแสง 0.6-0.7 มา 4.5 mL จำนวน 2 หลอด หยดสารละลาย $CuSO_4$ เข้มข้น 0.01 M 1 หยด ลงในแต่ละหลอด เติมน้ำกลั่น 0.5 mL ลงในหลอดทดลอง 1 เป็นสารละลายแบลงก์ และเติม H_2O_2 0.5 mL ลงในหลอดที่ 2 จับเวลาตั้งแต่เริ่มเติม H_2O_2 คนสารละลายให้เข้ากัน นำไปวัดการดูดกลืนแสง สร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์จากข้อมูลที่ได้เพื่อหาอันดับปฏิกิริยา ทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง
2) ทำการทดลองตามข้อ 1) ข้างต้น แต่เปลี่ยนเป็นใช้ความเข้มข้นของ $CuSO_4$ เป็น 0.02, 0.03 และ 0.05 M ตามลำดับ

ทั้งนี้สามารถสรุปปริมาณสารที่ใช้ในการทดลองออกเป็นภาวะต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สรุปความเข้มข้นและปริมาณสารที่ใช้ในการทดลอง

ภาวะที่	sol^{n*}	ปริมาตรแอนโทไซยานินขั้นกลาง (mL)							ปริมาตร H_2O_2 30% (mL)				$[CuSO_4]$ (M)
		I1	I2	I3	I4	I5	I6	I7	3%	10%	15%	24%	1 หยด
1	A0.9	4.5	-	-	-	-	-	-	0.5	-	-	-	-
2	A0.7	-	4.5	-	-	-	-	-	0.5	-	-	-	-
3	A0.6	-	-	4.5	-	-	-	-	0.5	-	-	-	-
4	A0.4	-	-	-	4.5	-	-	-	0.5	-	-	-	-
5	A0.6	-	-	-	-	3.5	-	-	-	1.5	-	-	-
6	A0.6	-	-	-	-	-	2.5	-	-	-	2.5	-	-
7	A0.6	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-
8	A0.7	-	4.5	-	-	-	-	-	0.5	-	-	-	0.01
9	A0.7	-	4.5	-	-	-	-	-	0.5	-	-	-	0.02
10	A0.7	-	4.5	-	-	-	-	-	0.5	-	-	-	0.03
11	A0.7	-	4.5	-	-	-	-	-	0.5	-	-	-	0.05

*หมายเหตุ: A0.9 แสดงว่าสารละลายที่เตรียมได้ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่เลือกใช้ประมาณ 0.9

2.3.4 ศึกษาจลนพลศาสตร์ของสีจากธรรมชาติสำหรับการเรียนการสอนเคมีทั่วไป 1

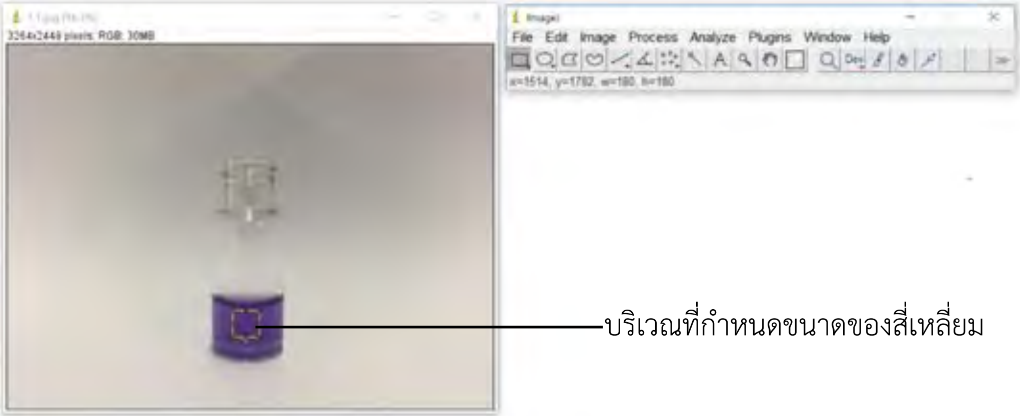
การติดตามปฏิกิริยาโดยใช้โปรแกรม ImageJ

ใช้สารละลายแอนโทไซยานิน, $CuSO_4$ และ H_2O_2 ตามความเข้มข้นและปริมาณที่เหมาะสมที่ได้จากการทำการทดลอง โดยปิเปตสารละลายแอนโทไซยานินใส่ขวดใส่สาร เติมสารละลาย $CuSO_4$ จำนวน 1 หยด

คนให้เข้ากัน เติม H_2O_2 ลงในสารละลาย จับเวลาตั้งแต่เริ่มเติม H_2O_2 คนสารละลายให้เข้ากัน ถ่ายภาพด้วยโทรศัพท์มือถือทุกๆ 30 วินาที จากนั้นนำภาพที่ได้ไปวิเคราะห์ภาพถ่ายด้วยโปรแกรม ImageJ และนำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ เพื่อหาอันดับปฏิกิริยา

<u>ขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม imageJ</u>

1. เปิดโปรแกรม imageJ จากนั้นเลือกรูปถ่าย โดยเลือกคำสั่ง File แล้วคลิก open
2. วัดค่า grey scale และค่า RGB โดยคลิกรูปสี่เหลี่ยมและกำหนดสี่เหลี่ยมให้มีขนาด ความกว้าง (w) เท่ากับ 180 และความสูง (h) เท่ากับ 180 และกำหนดค่า x เท่ากับ 1514 และ y เท่ากับ 1782



รูปที่ 3 กำหนดสี่เหลี่ยม

3. กดปุ่ม Analyze ⟶ Measure หรือ Ctrl+M เพื่ออ่านค่า grey scale

	Area	Mean	Min	Max
1	32400	84.243	60	100

รูปที่ 4 ค่าของ grey scale

4. กดปุ่ม Plugins ⟶ Analyze ⟶ RGB Measure เพื่ออ่าน RGB

	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Red	32400	79.548	56	95
2	Green	32400	54.831	29	71
3	Blue	32400	118.407	96	133
4	(R+G+B)/3	32400	84.243	60	100
5	0.299R+0.587G+0.114B	32400	69.472	45	85

รูปที่ 5 ค่าของ RGB

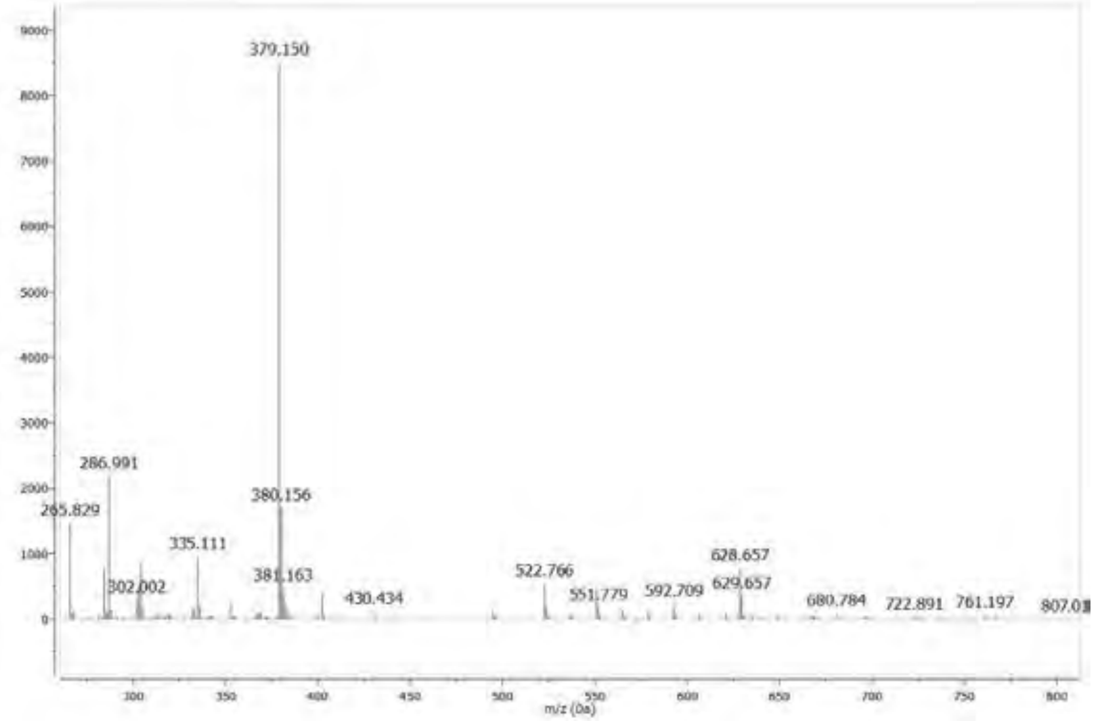
ติดตามปฏิกิริยาจากสีที่เปลี่ยนแปลงโดยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

1) โดยไขสารละลายแอนโทไซยานินมีค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 0.6-0.7 ปริมาตร 4.5 mL จากบิวเรต ใส่ลงในหลอดทดลอง จำนวน 2 หลอด หยดสารละลาย $CuSO_4$ เข้มข้น 0.03 M จำนวน 1 หยดลงในแต่ละหลอด จากนั้นเติมน้ำกลั่น 0.5 mL ด้วยกระบอกฉีดยาลงในหลอดทดลอง 1 เพื่อใช้เป็นสารละลายแบลงก์ นำไปวัดการดูดกลืนแสง บันทึกเป็นค่าที่เวลาเริ่มต้น A_0 เทสารละลายในคิวเวตทิ้ง จากนั้น เติม H_2O_2 30% 0.5 มิลลิลิตร ด้วยกระบอกฉีดยาเพื่อให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 3% ลงในสารละลายหลอดที่ 2 จับเวลาตั้งแต่เริ่มเติม H_2O_2 คนสารละลายให้เข้ากัน เทสารละลายลงในคิวเวต นำไปวัดการดูดกลืนแสง ทุกๆ 30 วินาที จนค่าการดูดกลืนแสงคงที่ นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ เพื่อหาอันดับปฏิกิริยา ทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

2) ทำการทดลองซ้ำดังข้างต้น โดยเปลี่ยนผู้ทำการทดลอง เป็นนิสิตปริญญาตรี และนิสิตปริญญาโท ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยนอกเหนือจากผู้วิจัยอีก 10 คน เพื่อเป็นกลุ่มตัวอย่างในการทดสอบวิธีทดลอง โดยใช้สารละลายแอนโทไซยานินที่เตรียมแตกต่างกัน 3 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 1 ครั้ง

บทที่ 3
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

แอนโทไซยานินที่นำใช้ในการทดลองเป็นผงสกัดจากดอกอัญชันที่มีขายในท้องตลาด โดยผู้วิจัยซื้อจากบริษัท AP OPERATIONS CO., LTD, Thailand ซึ่งเป็นการสกัดโดยไม่มีการแยกองค์ประกอบต่างๆ ให้บริสุทธิ์ เมื่อนำผงสกัดจากดอกอัญชัญไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทาง electrospray ionization-mass spectrometry (ESI-MS) พบว่าแมสสเปกตรัม (รูปที่ 6) แสดงสัญญาณมวลต่อประจุ (m/z) หลายค่า แสดงให้เห็นว่าผงสกัดจากดอกอัญชันมีองค์ประกอบหลายอย่าง ซึ่งอาจเกิดขึ้นจากส่วนของแอนโทไซยานินที่มีหลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1 รวมถึงตำแหน่งและชนิดของหมู่ไกลโคไซด์ที่ต่อกับแอนไทไซยานินที่มีได้หลากหลาย งานวิจัยนี้จึงไม่สามารถระบุมวลต่อโมล (molar mass) และความเข้มข้นที่แน่นอนของแอนไทไซยานินในผงสกัดดอกอัญชัญที่นำมาศึกษาได้ ในงานวิจัยนี้ จึงใช้การระบุปริมาณแอนโทไซยานินในหน่วยกรัมผงสกัดต่อปริมาตรรวมสารละลายในหน่วยมิลลิลิตร เช่น สารละลายแอนโทไซยานิน 0.143 g/ 5 mL หมายถึงสารละลายจากการชั่งผงสกัดจากดอกอัญชัญ 0.143 g ละลายน้ำให้มีปริมาตร 5 mL ทั้งนี้หากใช้มวลต่อโมลของไซยานิดินที่ไม่มีหมู่ไกลโคไซด์ (cy, 287.2 g/mol) ซึ่งเป็นแอนโทไซยานินหลักที่พบทั่วไป[9] มาคำนวณความเข้มข้นเทียบเท่า (cy eq) พบว่าสารละลาย 0.143 g/5 mL มีความเข้มข้นประมาณ 0.1 M cy eq ดังนั้นความเข้มข้นที่แท้จริงของแอนโทไซยานินที่นำมาศึกษาซึ่งมีหมู่ไกลโคไซด์ต่ออยู่นั้นต้องมีค่าต่ำกว่าความเข้มข้นเทียบเท่าที่คำนวณจากไซยาดินินบริสุทธิ์



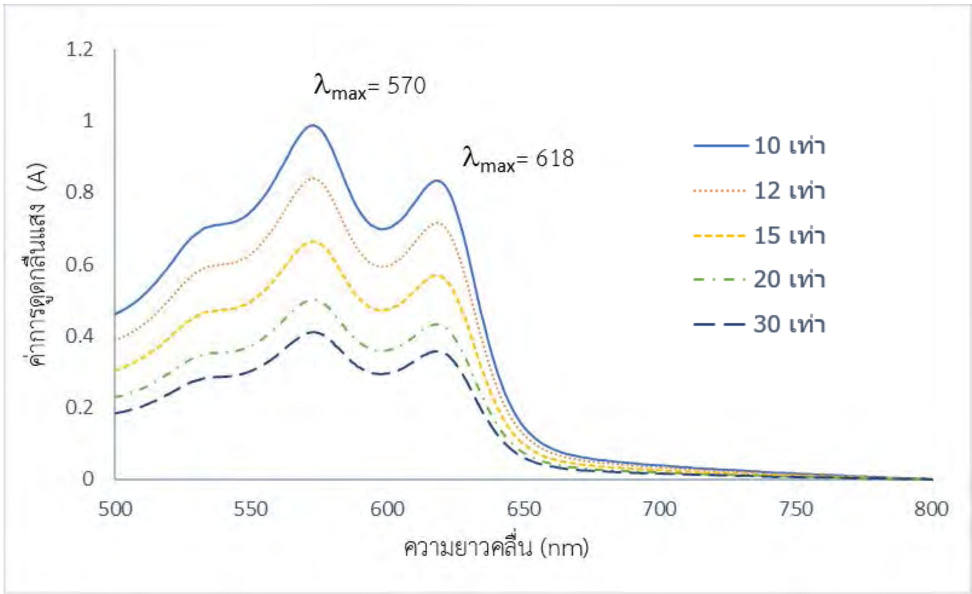
รูปที่ 6 แมสสเปกตรัม (mass spectrum) ของผงสกัดจากดอกอัญชัน

สำหรับการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการสลายตัวของแอนโทไซยานินด้วยเทคนิคทางสเปคโทรโฟโตเมตรีนั้น ใช้การบอกปริมาณแอนโทไซยานินเป็นค่าการดูดกลืนแสงแทน เช่น A0.4 แสดงว่าสารละลายที่เตรียมได้ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่เลือกใช้ประมาณ 0.4

3.1 ศึกษาอันดับของปฏิกิริยารีดอกซ์ของสีจากธรรมชาติ

3.1.1 หาความยาวคลื่นที่เหมาะสมต่อการศึกษาอันดับปฏิกิริยารีดอกซ์

เมื่อนำสารละลายแอนโทไซยานินสต็อก A (0.143 g/5 mL) มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 10, 12, 15, 20 และ 30 เท่า ตามลำดับ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเทคนิค UV-visible spectrophotometry ในช่วงความยาวคลื่น 200-800 nm โดยใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงก์ ได้สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายดังรูปที่ 7



รูปที่ 7 การดูดกลืนแสงของสารละลายแอนโทไซยานินเจือจาง 10 – 30 เท่า

รูปที่ 7 แสดงให้เห็นว่าสารละลายแอนโทไซยานินทุกความเข้มข้นแสดงค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ที่ความยาวคลื่น 570 nm และ 618 nm เมื่อสารละลายมีความเข้มข้นลดลง สังเกตเห็นการลดลงของการดูดกลืนแสงที่ 570 nm ได้ชัดเจนกว่าที่ 618 nm หรืออาจกล่าวได้ว่าค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง (molar absorptivity) ที่ 570 nm สูงกว่าที่ 618 nm งานวิจัยนี้จึงเลือกติดตามการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงที่ 570 nm เพื่อศึกษาอันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนไธไซยานินต่อไป

3.1.2 การศึกษาอันดับปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินที่ความเข้มข้นต่างๆ

เนื่องจากแอนโทไซยานินเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) มีสมบัติเป็นตัวรีดิวซ์ การศึกษาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน จึงใช้การทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นตัวออกซิไดซ์ โดยนำสารละลายของผงสกัดจากดอกอัญชันที่มีค่าการดูดกลืนแสงต่างๆ ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 3% (1 M) ซึ่งสูงกว่าความ

เข้มข้นเทียบเท่าของไซยานิดินบริสุทธิ์มากกว่าประมาณอย่างน้อย 90 เท่า จึงถือว่าความเข้มข้นของ H_2O_2 เปลี่ยนแปลงน้อยมากจนคงที่ ทำให้หาอันดับของปฏิกิริยาเมื่อเทียบกับแอนโทไซยานินได้

ในการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการสลายตัวของไดโครเมตด้วยแอลกอฮอล์ที่ใช้ในปฏิบัติการเคมีทั่วไป 1 ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยนั้น ใช้ข้อมูลการดูดกลืนแสงในรูปแบบต่างๆ ที่เวลาต่างกันเพื่อหาอันดับของปฏิกิริยา สำหรับปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินนั้น พบว่ามีทั้งการใช้ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสง (A) โดยตรง เช่นงานวิจัยของ Nikkhah และคณะ[12] และการใช้ % retention หรือ %A ซึ่งแสดงร้อยละของอัตราส่วนการดูดกลืนแสงที่เวลาต่างๆ ต่อการดูดกลืนแสงที่เวลาตั้งต้น $\left(\frac{A_t}{A_0} \times 100\right)$ เช่นในงานวิจัยของ Isabel และคณะ[15] งานวิจัยนี้จึงแสดงข้อมูลเปรียบเทียบทั้ง 2 รูปแบบในเบื้องต้น

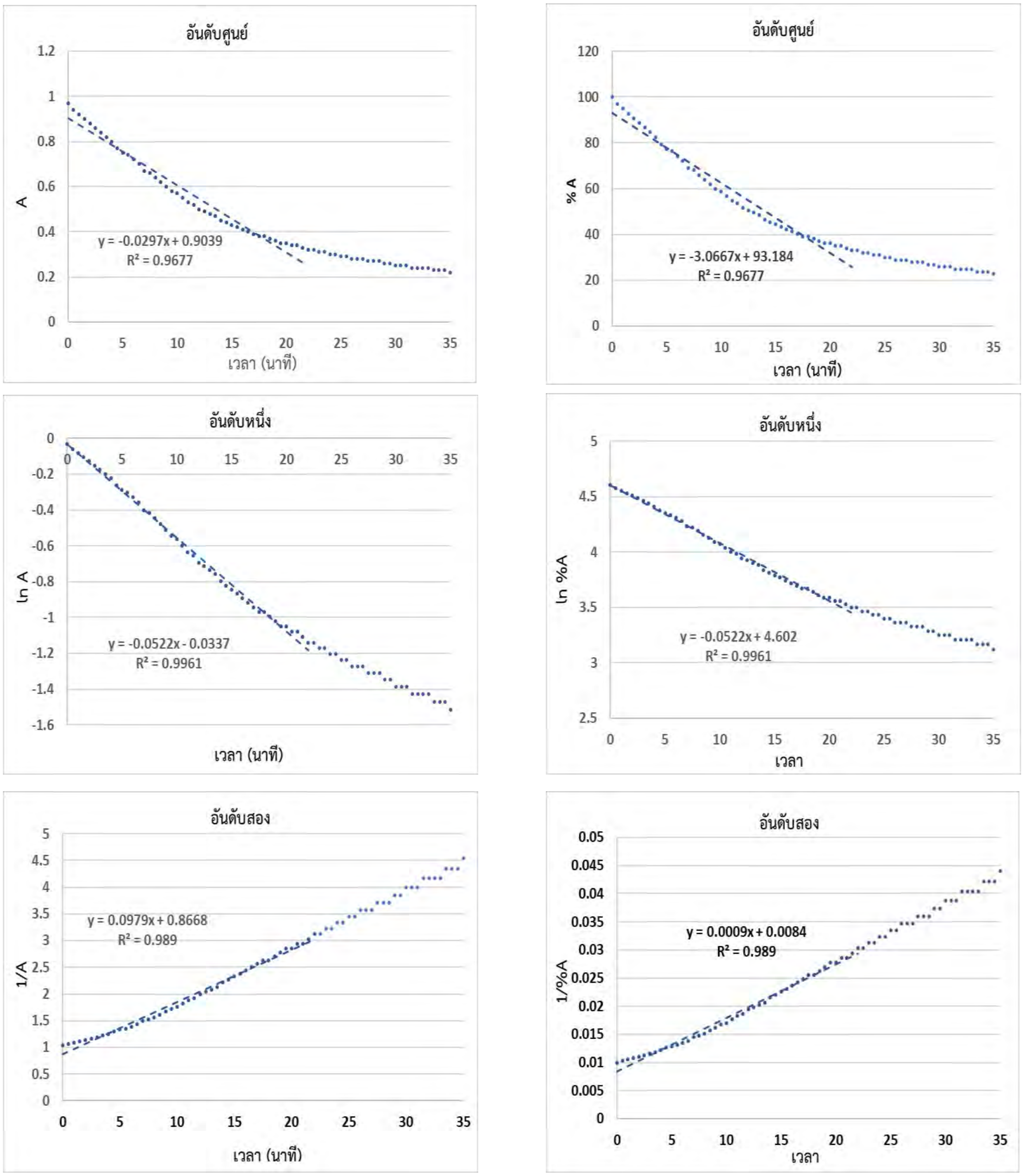
การศึกษาอันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน เมื่อใช้แอนโทไซยานินปริมาณต่างๆ คือ A0.9, A0.7, A0.6 และ A0.4 แสดงผลในรูปที่ 8 – รูปที่ 11 ตามลำดับ และสมการเส้นตรงจากโมเดลแบบ linear regression และค่า coefficient of determination (R^2) ของสมการเส้นตรงในตารางที่ 4 จากรูปที่ 8 เห็นได้ว่าการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.9 (ภาวะที่ 1 ในตารางที่ 4) ไม่ใช่ปฏิกิริยาอันดับ 0 เนื่องจากกราฟความสัมพันธ์ของ A กับเวลา t และ %A กับ t มีความโค้งอย่างเห็นได้ชัด เมื่อพิจารณากราฟของปฏิกิริยาอันดับ 1 และ 2 เห็นได้ว่าแม้ผลใกล้เคียงกันมาก แต่ในกราฟความสัมพันธ์ของ 1/A กับ t และ (1/%A) กับ t ซึ่งสอดคล้องกับปฏิกิริยาอันดับ 2 นั้น ช่วงต้นของกราฟมีความโค้งเล็กน้อย โดยมีค่า R^2 ของสมการเส้นตรงจากการทดลอง 3 ซ้ำในช่วง 0.9879 – 0.989 ในขณะที่กราฟความสัมพันธ์ของ ln A กับ t และ ln (%A) กับ t ซึ่งสอดคล้องกับปฏิกิริยาอันดับ 1 มีความเป็นเส้นตรงมากกว่า ดังเห็นได้จากค่า R^2 ในช่วง 0.9959 – 0.9961

รูปที่ 8 ยังแสดงให้เห็นว่าการใช้ข้อมูลการดูดกลืนแสง A และ %A ให้สมการเส้นตรงและค่า R^2 เท่ากัน แตกต่างกันเพียงขนาดของสเกลในแกน y เท่านั้น ในการแสดงความสัมพันธ์ของการดูดกลืนแสงในรูปแบบต่างๆ กับเวลาหลังจากนี้ จึงแสดงผลเฉพาะการดูดกลืนแสง A เท่านั้น

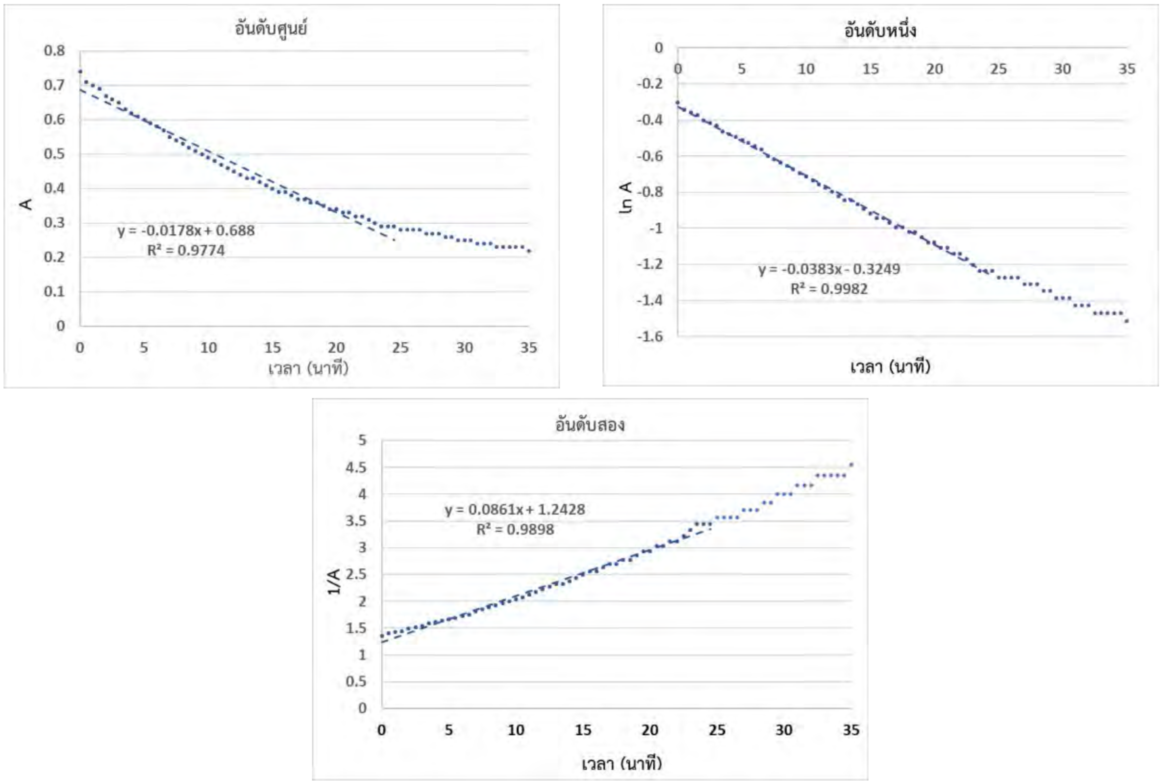
ในขณะที่การศึกษาอันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินของ A0.7 A0.6 และA0.4 ในรูปที่ 9 – รูปที่ 10 สอดคล้องกับ A0.9 คือปฏิกิริยาสอดคล้องกับการเป็นปฏิกิริยาอันดับ 1 มากกว่า แต่การใช้ A0.4 ให้ผลที่ไม่ชัดเจน หากดูจากลักษณะเส้นตรงของกราฟ เนื่องจากกราฟของ ln A กับ t และ 1/A กับ t มีความเป็นเส้นตรงใกล้เคียงกันมาก อย่างไรก็ตาม เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสง A มาเปรียบเทียบเวลาของครึ่งชีวิตช่วงที่ 1 และ ช่วงที่ 2 ดังแสดงในรูปที่ 12 เห็นได้ว่าเวลาในครึ่งชีวิตที่ 1 และ 2 ค่อนข้างใกล้เคียงกัน คือ 12 และ 14 นาที สอดคล้องจากสมการแสดงความสัมพันธ์ของครึ่งชีวิตกับเวลาของปฏิกิริยาอันดับ 1 ที่ไม่ขึ้นกับความเข้มข้น ในขณะที่ครึ่งชีวิตช่วงที่ 2 ของปฏิกิริยาอันดับที่ 2 จะนานเป็นสองเท่าของครึ่งชีวิตช่วงที่ 1 แสดงว่าปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเป็นปฏิกิริยาอันดับ 1

ตารางที่ 4 สมการเส้นตรงและค่า R^2 ของการศึกษาอันดับปฏิกิริยาแบบต่างๆ เมื่อใช้ H_2O_2 3% ของ A0.9, A0.7, A0.6 และ A0.4

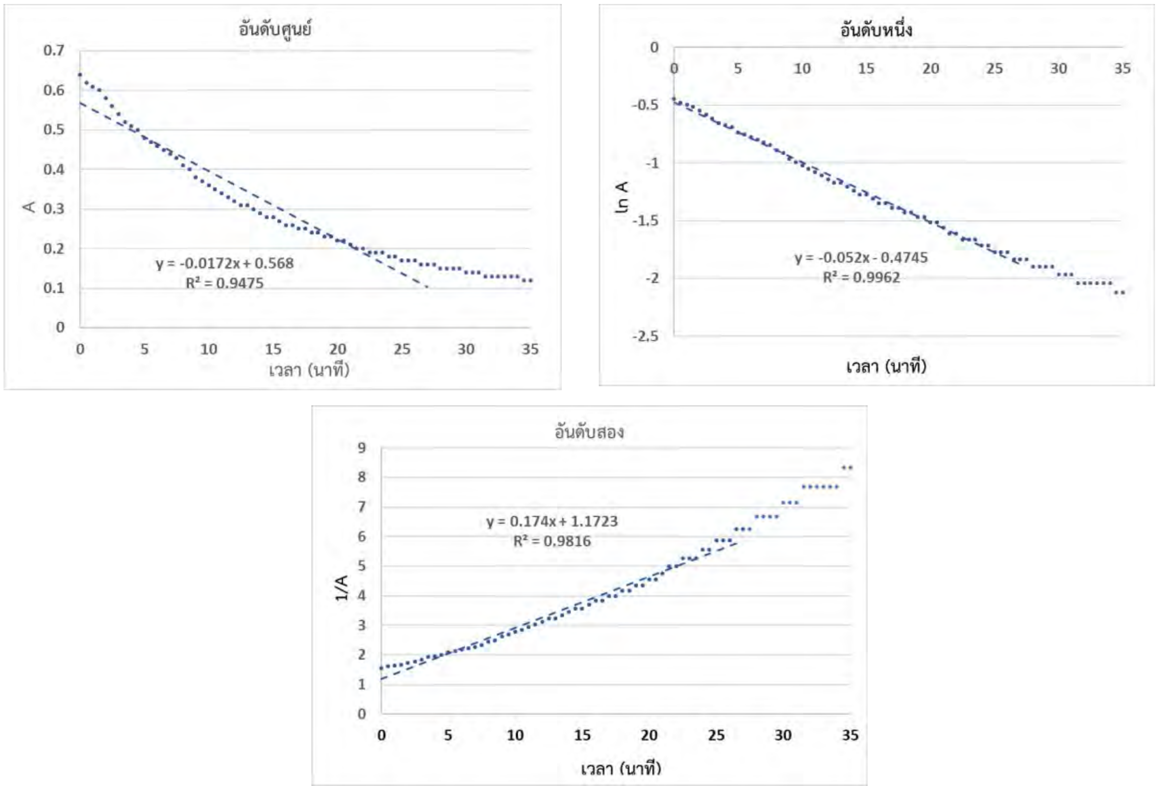
ภาวะที่		อันดับศูนย์		อันดับหนึ่ง		อันดับสอง	
		สมการเส้นตรง	R^2	สมการเส้นตรง	R^2	สมการเส้นตรง	R^2
1 A0.9	A	y = -0.0297x + 0.9039	0.9677	y = -0.0522x - 0.0337	0.9961	y = 0.0979x + 0.8668	0.989
		y = -0.0297x + 0.9032	0.9687	y = -0.0522x - 0.0341	0.996	y = 0.0979x + 0.8668	0.9885
		y = -0.0294x + 0.8984	0.9701	y = -0.0518x - 0.0397	0.9959	y = 0.0975x + 0.8735	0.9879
	%A	y = -3.0667x + 93.184	0.9677	y = -0.0522x + 4.602	0.9961	y = 0.0009x + 0.0084	0.989
		y = -3.1252x + 95.079	0.9687	y = -0.0522x + 4.6224	0.996	y = 0.0009x + 0.0082	0.9885
		y = -3.1262x + 95.57	0.9701	y = -0.0518x + 4.6273	0.9959	y = 0.0009x + 0.0082	0.9879
2 A0.7	A	y = -0.0178x + 0.688	0.9774	y = -0.0383x - 0.3249	0.9982	y = 0.0861x + 1.2428	0.9898
		y = -0.018x + 0.6917	0.9734	y = -0.0386x - 0.3198	0.9977	y = 0.0864x + 1.2357	0.9905
		y = -0.0176x + 0.6846	0.9811	y = -0.038x - 0.3295	0.9983	y = 0.0857x + 1.2489	0.9882
	%A	y = -2.4093x + 92.973	0.9774	y = -0.0383x - 0.3249	0.9982	y = 0.0006x + 0.0092	0.9898
		y = -2.4045x + 92.229	0.9734	y = -0.0386x + 4.573	0.9977	y = 0.0006x + 0.0093	0.9905
		y = -2.4243x + 94.901	0.9811	y = -0.038x + 4.6041	0.9983	y = 0.0006x + 0.009	0.9882
3 A0.6	A	y = -0.0172x + 0.568	0.9475	y = -0.052x - 0.4745	0.9962	y = 0.174x + 1.1723	0.9816
		y = -0.0177x + 0.5845	0.9485	y = -0.0523x - 0.4445	0.9964	y = 0.1707x + 1.1295	0.9808
		y = -0.0178x + 0.6044	0.9594	y = -0.0496x - 0.4161	0.997	y = 0.1519x + 1.1457	0.982
	%A	y = -2.6856x + 88.755	0.9475	y = -0.052x + 4.577	0.9962	y = 0.0011x + 0.0075	0.9816
		y = -2.7286x + 89.927	0.9485	y = -0.0523x + 4.5914	0.9964	y = 0.0011x + 0.0073	0.9808
		y = -2.731x + 92.981	0.9594	y = -0.0496x + 4.6198	0.997	y = 0.001x + 0.0074	0.982
4 A0.4	A	y = -0.0097x + 0.3811	0.9809	y = -0.0354x - 0.9289	0.9958	y = 0.1336x + 2.3646	0.9882
		y = -0.0098x + 0.3828	0.9759	y = -0.0356x - 0.9247	0.9946	y = 0.1343x + 2.3543	0.9889
		y = -0.0097x + 0.3829	0.9746	y = -0.0353x - 0.926	0.9944	y = 0.1321x + 2.3656	0.992
	%A	y = -2.3561x + 92.963	0.9809	y = -0.0354x + 4.5678	0.9958	y = 0.0005x + 0.0097	0.9882
		y = -2.327x + 91.153	0.9759	y = -0.0356x + 4.5479	0.9946	y = 0.0006x + 0.0099	0.9889
		y = -2.3703x + 93.39	0.9746	y = -0.0353x + 4.5707	0.9944	y = 0.0005x + 0.0097	0.992



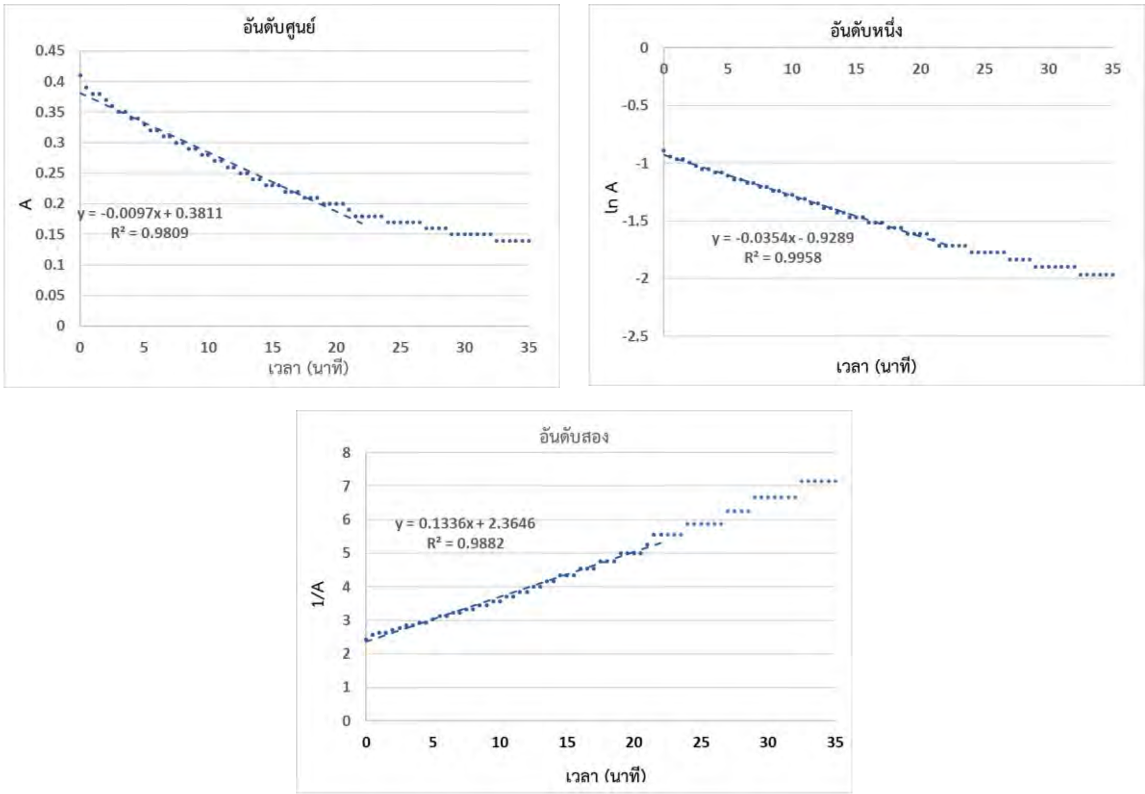
รูปที่ 8 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.9 เมื่อใช้ H_2O_2 3%:
a) เมื่อใช้ข้อมูลจากค่าการดูดกลืนแสง A และ b) เมื่อใช้ข้อมูลจากค่า %A



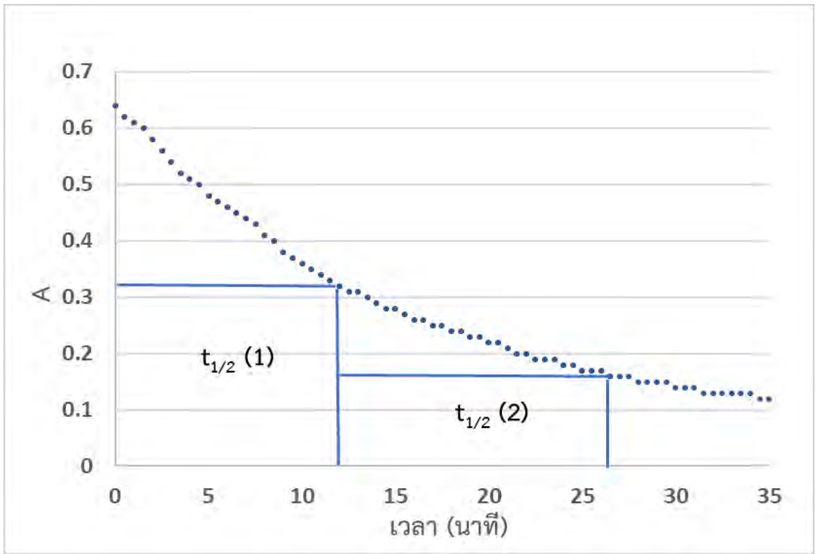
รูปที่ 9 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.7 เมื่อใช้ H_2O_2 3%



รูปที่ 10 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.6 เมื่อใช้ H_2O_2 3%



รูปที่ 11 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.4 เมื่อใช้ H_2O_2 3%



รูปที่ 12 แสดงการหา $t_{1/2}$ จากการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงที่เวลาต่างๆ

3.1.3 การศึกษาอันดับปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเมื่อใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ทำการทดลองโดยใช้แอนโทไซยานินที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น 0.6-0.7 ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 3, 10, 15 และ 24 % ตามลำดับ

การศึกษาอันดับปฏิกิริยาเมื่อใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 3, 10, 15 และ 24 % แสดงผลในรูปที่ 10 และ รูปที่ 13 – รูปที่ 15 ตามลำดับ และสมการเส้นตรงและ R^2 ของสมการเส้นตรงในตารางที่ 5 โดยพบว่าการใช้ H_2O_2 3% เกิดปฏิกิริยาอันดับ 1 ดังที่ได้กล่าวถึงแล้ว

จากการพิจารณากราฟความสัมพันธ์รูปที่ 13 ซึ่งเป็นผลการศึกษาเมื่อใช้ H_2O_2 9% (ภาวะที่ 5 ในตารางที่ 5) จากกราฟของปฏิกิริยาอันดับ 0 และ 1 เห็นได้ว่ากราฟมีลักษณะโค้งอย่างชัดเจน ในขณะกราฟของปฏิกิริยาอันดับ 2 มีความเป็นเส้นตรง ที่มีค่า R^2 ในช่วง 0.9968-0.9979

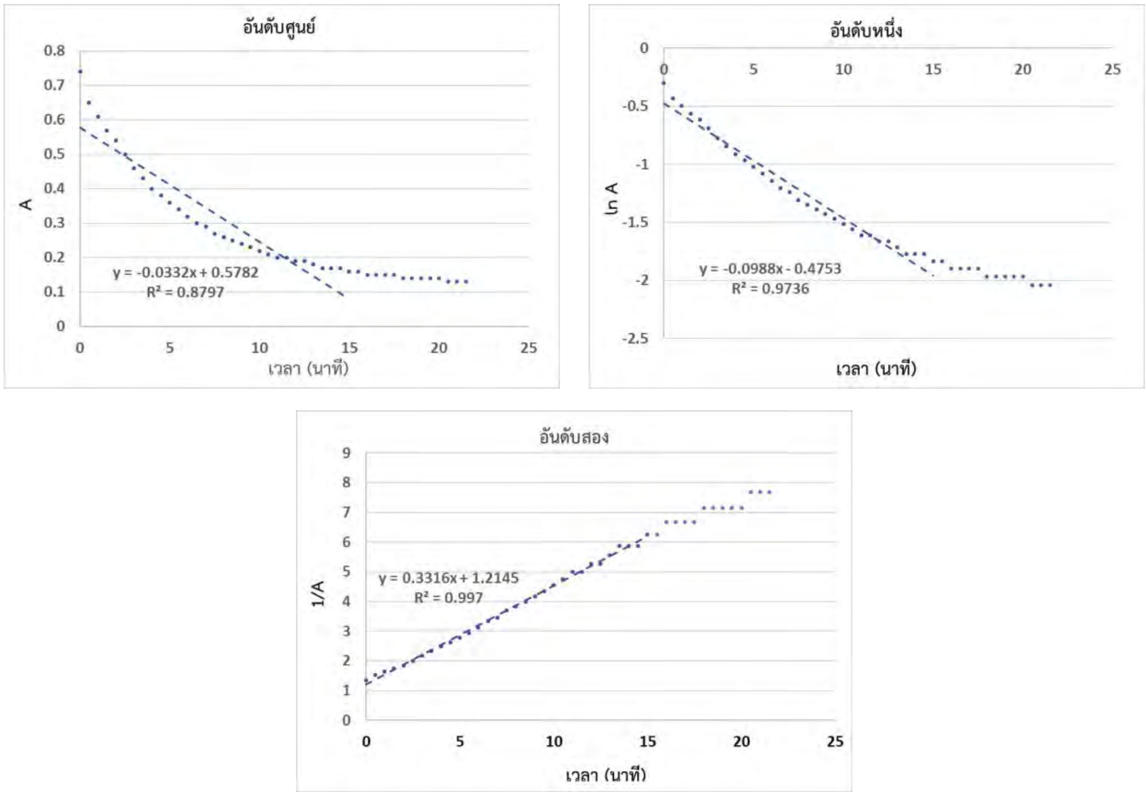
การใช้ H_2O_2 15% ในตารางที่ 5 สอดคล้องกับการใช้ H_2O_2 10% คือเป็นปฏิกิริยาอันดับ 2 มากกว่า ส่วนการใช้ H_2O_2 24% ในรูปที่ 15 ไม่มีกราฟความสัมพันธ์ใดที่เป็นเส้นตรงเลย แต่ค่า R^2 ของอันดับ 2 ดีที่สุด (0.925 – 0.94) ทั้งนี้ คาดว่าเป็นเพราะความเข้มข้นของ H_2O_2 สูงเกินไป ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงแอนโทไซยานินลดลงอย่างรวดเร็ว เห็นได้ชัดจากกราฟที่ลดลงเร็วมากในช่วงต้น เวลาที่ใช้ในการวัดค่าการดูดกลืนแสงทุกๆ 30 s ไม่เหมาะสมต่อการติดตามปฏิกิริยา นอกจากนี้ การที่ความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่สูงขึ้นมีผลทำให้อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเปลี่ยนไป ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยที่พบว่าเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง[11,13-14] ยังเป็นการเสนอแนะว่ามีปฏิกิริยาข้างเคียงอื่นเกิดขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับความไม่บริสุทธิ์ของผงสกัดจากดอกอัญชัญที่นำมาใช้

จากผลการศึกษาอันดับของปฏิกิริยาเมื่อความเข้มข้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างกัน พบว่าภาวะที่เหมาะสมคือการใช้ H_2O_2 3% เนื่องจากให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยอื่น คือ ระบุอันดับของปฏิกิริยาได้ชัดเจนว่าเป็นปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง เวลาที่ใช้ในการวัดค่าการดูดกลืนแสงทุกๆ 30 s มีความเหมาะสม นอกจากนี้ ยังมีความปลอดภัยมากกว่าการใช้ H_2O_2 ที่เข้มข้นสูง การศึกษาต่อจากนี้จึงเลือกใช้ H_2O_2 เข้มข้น 3%

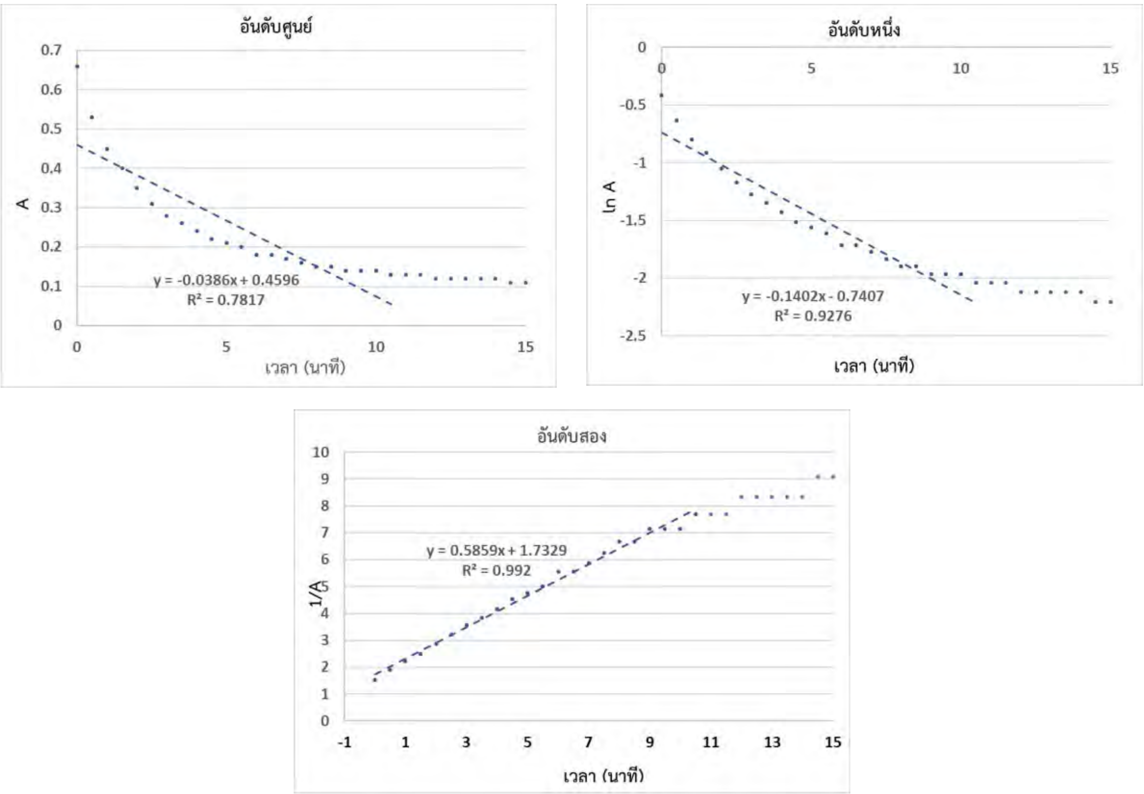
ตารางที่ 5 สมการเส้นตรงและค่า R^2 ของการศึกษาอันดับปฏิกิริยาแบบต่างๆ ของ A0.6-0.7 เมื่อใช้ H_2O_2 3%, 10%, 15% และ 24%

ภาวะที่*	อันดับศูนย์		อันดับหนึ่ง		อันดับสอง	
	สมการเส้นตรง	R^2	สมการเส้นตรง	R^2	สมการเส้นตรง	R^2
3 3%	y = -0.0172x + 0.568	0.9475	y = -0.052x - 0.4745	0.9962	y = 0.174x + 1.1723	0.9816
	y = -0.0177x + 0.5845	0.9485	y = -0.0523x - 0.4445	0.9964	y = 0.1707x + 1.1295	0.9808
	y = -0.0178x + 0.6044	0.9594	y = -0.0496x - 0.4161	0.997	y = 0.1519x + 1.1457	0.982
5 10%	y = -0.0332x + 0.5782	0.8797	y = -0.0988x - 0.4753	0.9736	y = 0.3316x + 1.2145	0.997
	y = -0.0323x + 0.5996	0.8841	y = -0.0878x - 0.4533	0.9701	y = 0.2635x + 1.2973	0.9979
	y = -0.0337x + 0.5894	0.8862	y = -0.0951x - 0.4644	0.9721	y = 0.2987x + 1.2734	0.9968
6 15%	y = -0.0386x + 0.4596	0.7817	y = -0.1402x - 0.7407	0.9276	y = 0.5859x + 1.7329	0.992
	y = -0.0391x + 0.5052	0.8114	y = -0.118x - 0.6585	0.917	y = 0.3891x + 1.7641	0.978
	y = -0.0346x + 0.4429	0.7562	y = -0.13x - 0.7864	0.9102	y = 0.5679x + 1.8414	0.9847
7 24%	y = -0.0266x + 0.3377	0.5517	y = -0.1228x - 1.1445	0.7818	y = 0.702x + 3.0327	0.925
	y = -0.0421x + 0.395	0.6139	y = -0.1663x - 0.9626	0.8188	y = 0.7867x + 2.4798	0.947
	y = -0.042x + 0.393	0.5954	y = -0.1655x - 0.9764	0.8046	y = 0.7853x + 2.5468	0.94

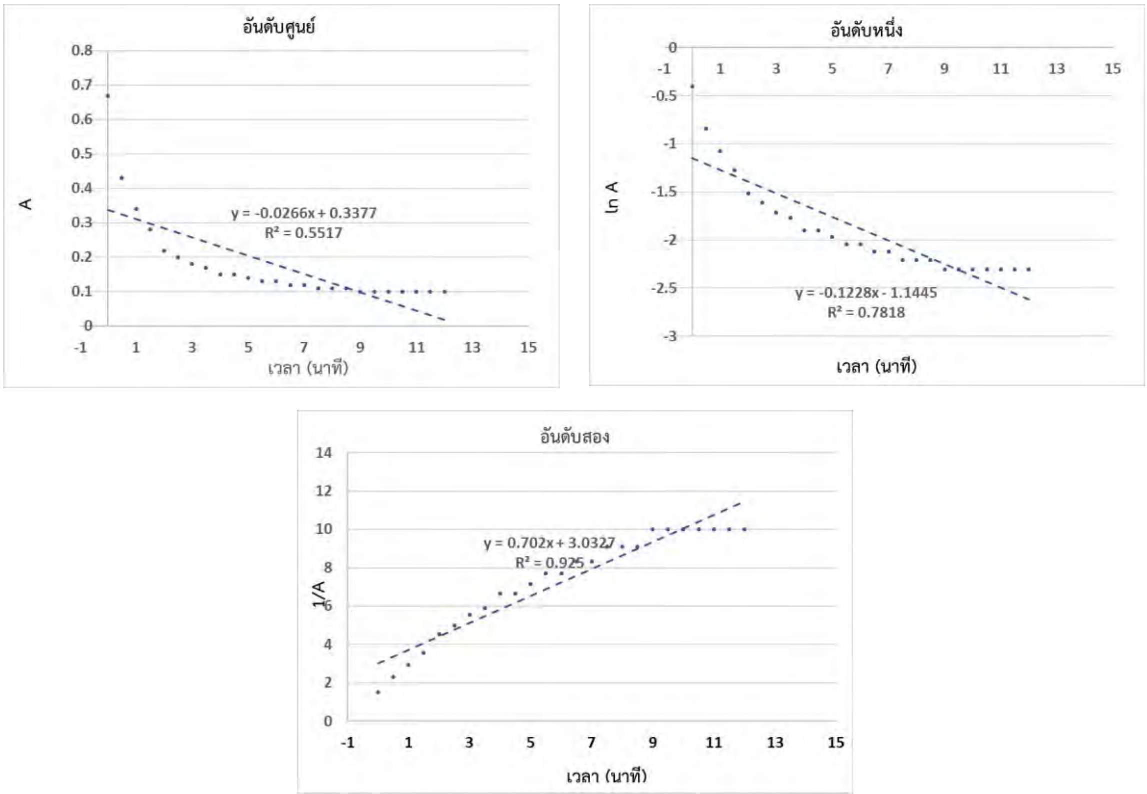
*ภาวะที่ ตามตารางที่ 3



รูปที่ 13 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.6-0.7 เมื่อใช้ H_2O_2 10%



รูปที่ 14 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.6-0.7 เมื่อใช้ H_2O_2 15%



รูปที่ 15 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.6-0.7 เมื่อใช้ H_2O_2 24%

3.1.4 การศึกษาอันดับปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเมื่อใช้คอปเปอร์(II) ซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ

เนื่องจากเวลาที่ใช้ในการศึกษาการสลายตัวของแอนโทไซยานินจนค่าการดูดกลืนแสงคงที่ในภาวะที่ผ่านมาค่อนข้างนาน คือประมาณ 30 นาที จึงเป็นที่น่าสนใจว่าการเติมตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น ไอออนคอปเปอร์สามารถลดเวลาในการทำการทดลองได้หรือไม่ จึงได้ทำการศึกษาโดยใช้แอนโทไซยานินที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น 0.6-0.7 ทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 3 % และเติมคอปเปอร์(II) ซัลเฟต ($CuSO_4$) เข้มข้น 0.01, 0.02, 0.03 และ 0.05 M ตามลำดับจำนวน 1 หยดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ผลการศึกษาอันดับของปฏิกิริยาเมื่อเติม $CuSO_4$ 1 หยดโดยใช้สารละลายเข้มข้น 0.01 – 0.05 M พบว่าการเติม $CuSO_4$ ไม่ทำให้อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเปลี่ยนไป ดังตัวอย่างในรูปที่ 16 กล่าวคือยังคงได้อันดับของปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1 ทุกความเข้มข้น ทั้งนี้เมื่อพิจารณาการลดลงของการดูดกลืนแสงที่เวลาต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 17 เห็นได้ว่าเมื่อความเข้มข้นของ $CuSO_4$ น้อยๆ (0.01 – 0.02 M) เวลาที่ใช้จนค่าการดูดกลืนแสงคงที่ (t_{const}) ลดลงเล็กน้อยจากเฉลี่ย 23 นาที เหลือ 22 นาที เมื่อความเข้มข้นของ $CuSO_4$ เพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $CuSO_4$ เป็น 0.03 M เวลา t_{const} สั้นลงอย่างเห็นได้ชัดคือลดลงเหลือเฉลี่ย 18 นาที อย่างไรก็ตาม การใช้ $CuSO_4$ 0.05 M ไม่ได้ทำให้เวลาในการทำการทดลองลดลงอีก ซึ่งสอดคล้องกับค่าคงที่อัตราที่หาได้จากค่าความชันของสมการ

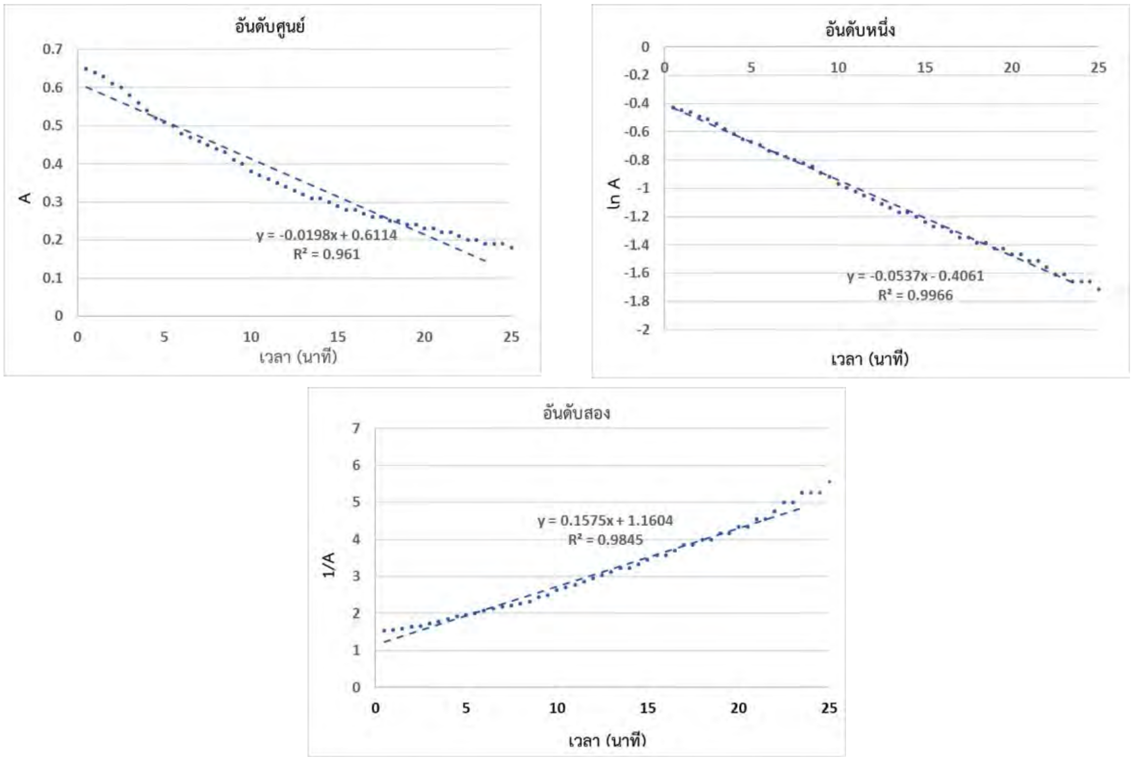
เส้นตรงของปฏิกิริยาอันดับ 1 ดังแสดงในตารางที่ 6 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการทดลองโดยใช้ $CuSO_4$ 0.03 และ 0.05 M ให้ค่าคงที่อัตราที่ใกล้เคียงกัน คือ 0.0746 ถึง 0.0777

เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสง A เมื่อเติม $CuSO_4$ 0.01 M แสดงในรูปที่ 17 ทำการหาครึ่งชีวิตในลักษณะเดียวกับที่ในรูปที่ 12 เห็นได้ว่าเวลาในครึ่งชีวิตที่ 1 และ 2 ค่อนข้างใกล้เคียงกัน คือ 13 และ 14 นาที และเมื่อเปรียบเทียบค่า $t_{1/2}$ ของอันดับหนึ่ง ดังแสดงในตารางที่ 6 มีค่า 12.91-14.81 ซึ่งเป็นค่าที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งช่วยยืนยันการเกิดปฏิกิริยาอันดับ 1 ที่ไม่ขึ้นกับความเข้มข้น และมีค่าครึ่งชีวิตคงที่ และในขณะที่การเติม $CuSO_4$ มีความเข้มข้นต่างๆคือ 0.01, 0.02, 0.03 และ 0.05 M รูปที่ 17 ให้ผลสอดคล้องกัน คือมีค่าครึ่งชีวิตใกล้เคียงกันและปฏิกิริยาสอดคล้องกับการเป็นปฏิกิริยาอันดับ 1

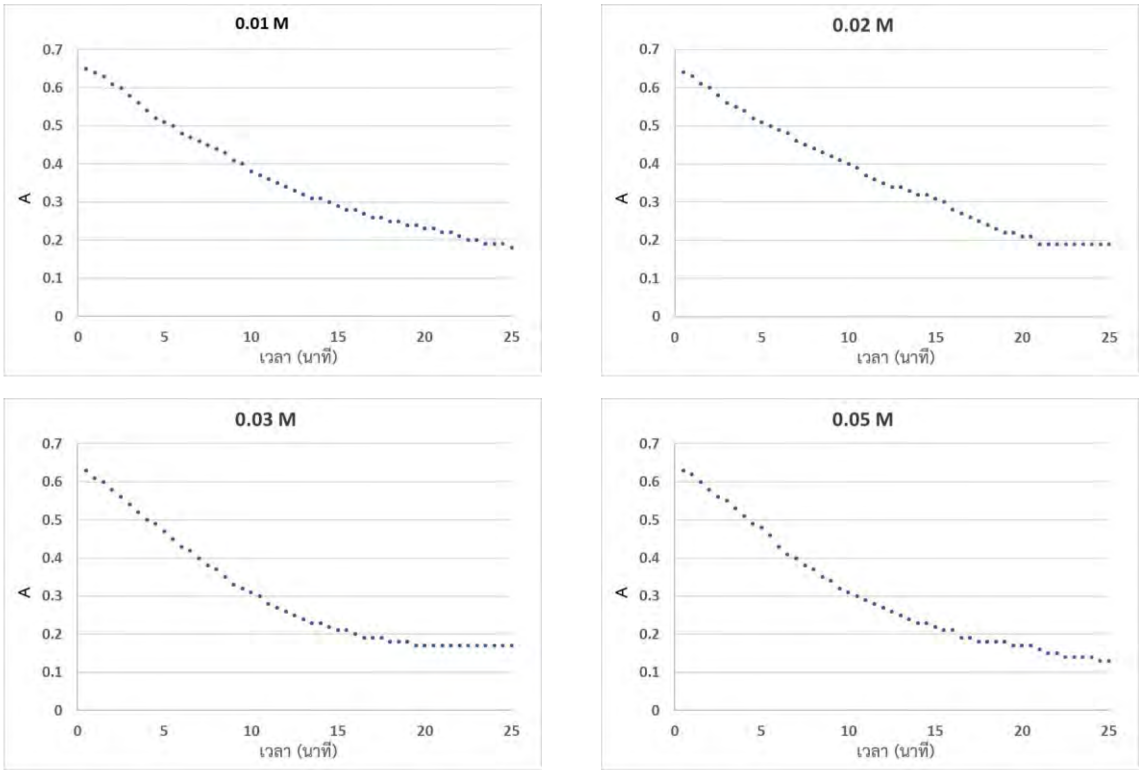
ตารางที่ 6 เวลาที่ใช้จนค่าการดูดกลืนแสงคงที่ ค่า R^2 ของปฏิกิริยาอันดับต่างๆ และสมการเส้นตรง ค่า k และ $t_{1/2}$ ของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เมื่อใช้สารละลาย A0.6-0.7 H_2O_2 3% และ $CuSO_4$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ภาวะที่*	t_{const} (min)	อันดับศูนย์	อันดับหนึ่ง				อันดับสอง
		R^2	สมการเส้นตรง	R^2	k	$t_{1/2}$	R^2
8 0.01 M	23.5	0.961	y = -0.0537x - 0.4061	0.9966	0.0537	12.91	0.9865
	23.5	0.9566	y = -0.0468x - 0.4102	0.9968	0.0468	14.81	0.9943
	23.0	0.9725	y = -0.051x - 0.3791	0.9978	0.051	13.59	0.9823
9 0.02 M	22.0	0.9899	y = -0.0573x - 0.3758	0.9922	0.0573	12.10	0.9413
	22.0	0.9909	y = -0.057x - 0.3796	0.9911	0.057	12.16	0.9391
	23.0	0.9906	y = -0.0563x - 0.3852	0.9926	0.0563	12.31	0.9436
10 0.03 M	18.0	0.9666	y = -0.076x - 0.4	0.9958	0.076	9.12	0.9799
	18.0	0.9635	y = -0.0758x - 0.3997	0.9942	0.0758	9.14	0.981
	17.5	0.9692	y = -0.0777x - 0.3875	0.9962	0.0777	8.92	0.9764
11 0.05 M	18.5	0.9654	y = -0.0748x - 0.3968	0.997	0.0748	9.27	0.9771
	17.5	0.968	y = -0.0776x - 0.3747	0.9973	0.0776	8.93	0.9751
	18.0	0.9675	y = -0.0746x - 0.3991	0.9969	0.0746	9.29	0.9758

*ภาวะที่ ตามตารางที่ 3



รูปที่ 16 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน A0.6-0.7 เมื่อใช้ H_2O_2 3% และ $CuSO_4$ 0.01 M



รูปที่ 17 การดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานิน A0.6-0.7 ที่ลดลง เมื่อใช้ H_2O_2 3%

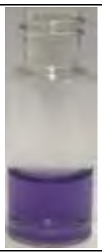
และเติม $CuSO_4$ 0.01, 0.02, 0.03 และ 0.05 M

3.2 ศึกษาจลนพลศาสตร์ของสีจากธรรมชาติสำหรับการเรียนการสอนเคมีทั่วไป 1

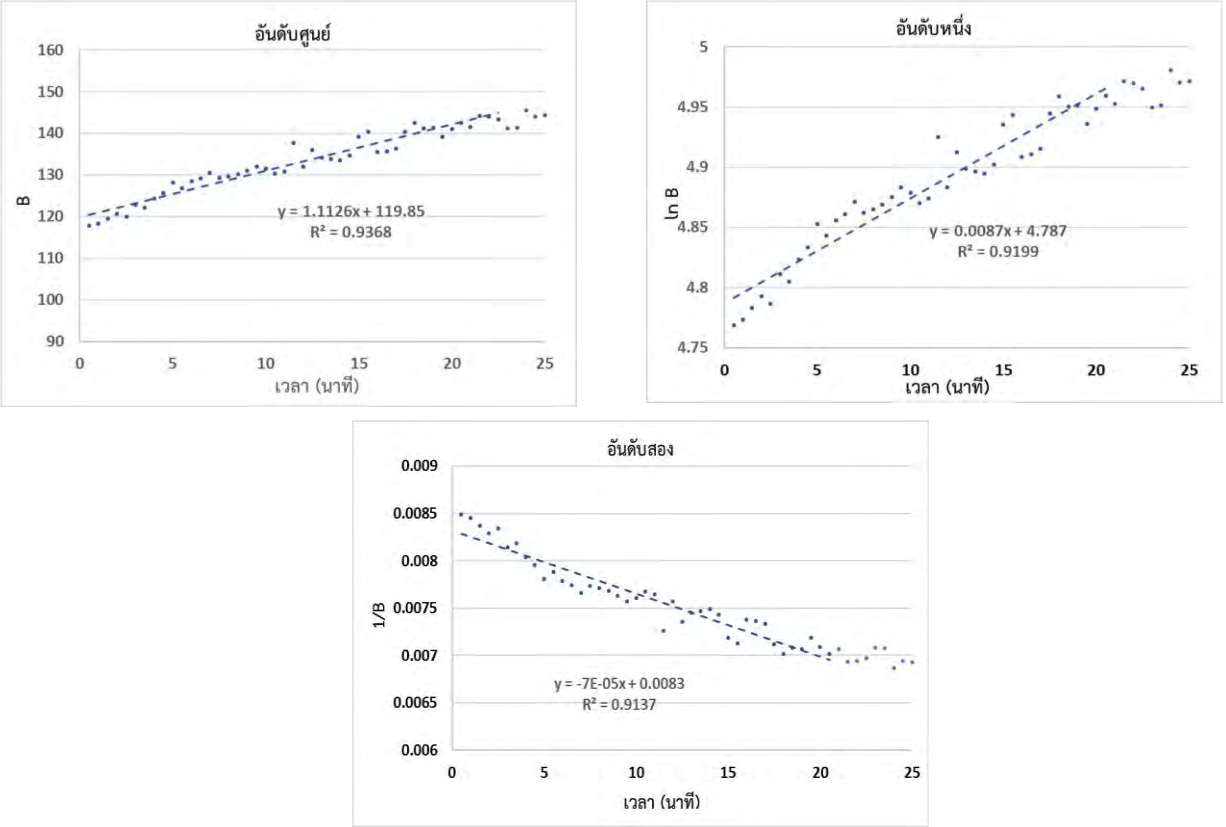
3.2.1 การติดตามปฏิกิริยาโดยใช้โปรแกรม ImageJ

เนื่องจากเวลาที่ต้องใช้ในการทำการทดลองเพื่อหาอันดับของปฏิกิริยาค่อนข้างนาน ด้วยข้อจำกัดของจำนวนเครื่องสเปกโทรนิก 21 ที่มีในห้องปฏิบัติการที่มีประมาณ 8-9 เครื่องต่อนิสิต 60 คน การใช้วิธีอื่นในการอ่านค่าสีแทนการใช้ค่าการดูดกลืนแสงจากเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์จึงเป็นเรื่องน่าสนใจ โปรแกรมหนึ่งที่ใช้วิเคราะห์ภาพถ่ายและได้รับการยอมรับในงานวิจัยคือโปรแกรม imageJ ผู้วิจัยจึงสนใจใช้ภาพถ่ายจากโทรศัพท์มือถือซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่นิสิตจำนวนมากมีใช้อยู่แล้วในการศึกษาอันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน

การทดลองทำโดยใช้แอนโทไซยานินที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น 0.6-0.7 ทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 3% โดย $CuSO_4$ 0.03 M 1 หยดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ติดตามการเปลี่ยนแปลงสีจากภาพถ่ายทุกๆ 30 วินาที แสดงตัวอย่างในรูปที่ 18 นำไปวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม ImageJ โดยกำหนดพื้นที่วิเคราะห์สี่เหลี่ยมให้มีขนาดกว้าง (w) 180 สูง (h) 180 และกำหนดจุดเริ่มต้นของแกน x เท่ากับ 1514 และ y เท่ากับ 1782 จากมุมซ้ายบนของภาพถ่าย โดยนำข้อมูล grey scale และ RGB ใช้แทนค่าการดูดกลืนแสง นำไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์กับเวลาเพื่อหาอันดับปฏิกิริยา โดยทดลองใช้รูปแบบต่างๆ เช่น ใช้ค่า grey scale หรือค่า R G B ค่าใดค่าหนึ่งเพียงอย่างเดียว การใช้ค่าผสม เช่น อัตราส่วนของสีหนึ่งต่อสีอื่น (R/G) อัตราส่วนของสีหนึ่งต่อผลบวกของสีที่เหลือ (G/R+B) เป็นต้น รวมทั้งสิ้น 16 แบบ (ตัวอย่างในรูปที่ 19) ผลพบว่าไม่มีรูปแบบใดที่ให้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงเลย แม้ได้กำหนดขนาดพื้นที่และค่าเริ่มต้นของตำแหน่ง x และ y ในการวิเคราะห์ภาพแล้ว ทั้งนี้ คาดว่าเพราะการถ่ายภาพแบบจำลองสถานการณ์จริงหากใช้ในรายวิชาปฏิบัติการ คือไม่มีการใช้ขาตั้งกล้องยึดตำแหน่งโทรศัพท์มือถือ ทำให้ตำแหน่งและขนาดของขวดสารไม่เหมือนเดิมระหว่างการถ่ายภาพแต่ละครั้ง รวมถึงเกิดผลรบกวนจากแสงภายนอกได้ ทำให้ค่าที่อ่านได้จากโปรแกรมไม่สามารถใช้ติดตามปฏิกิริยาได้ การใช้โปรแกรม ImageJ จึงไม่เหมาะสมต่อการทดลองเคมีทั่วไป 1 เนื่องจากไม่ให้ผลที่สอดคล้องกับที่เคยพบ ปัญหาในการถ่ายภาพ และความยุ่งยากในการวิเคราะห์ข้อมูล

เวลา (นาที)	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5
ภาพ										

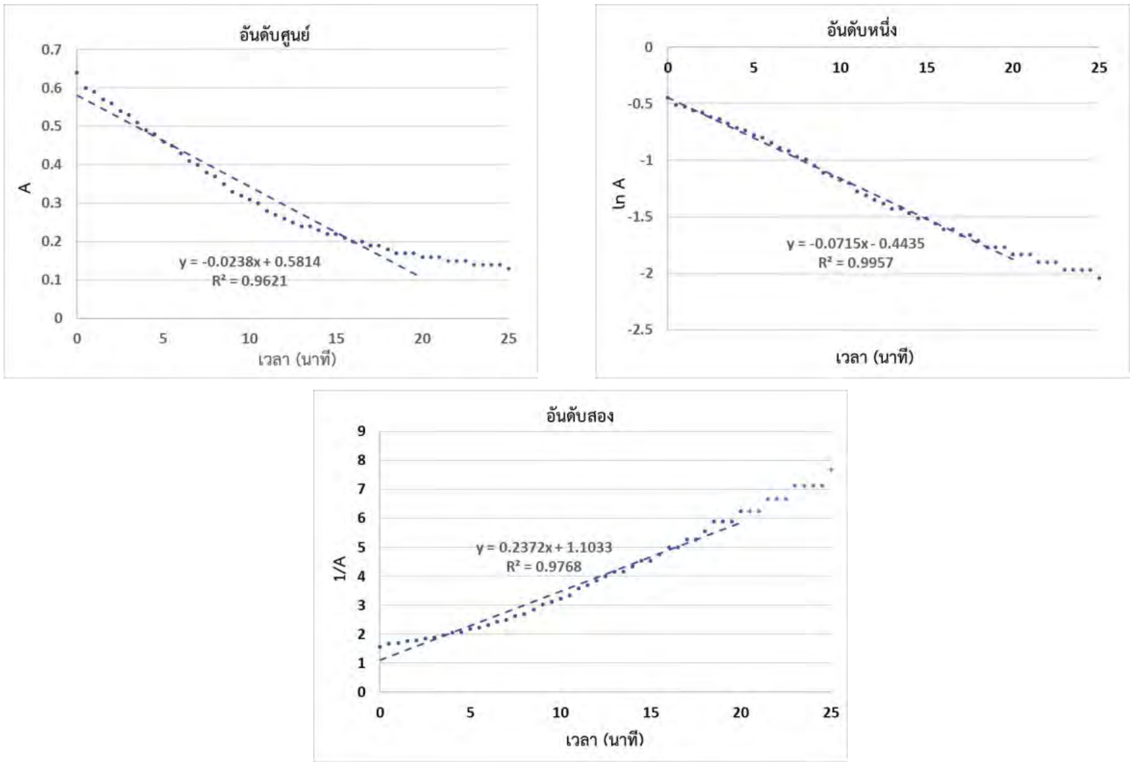
รูปที่ 18 ภาพถ่ายการติดตามปฏิกิริยาที่เวลาต่างๆ



รูปที่ 19 อันดับของปฏิกิริยาของของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเมื่อใช้ค่าสี B

3.2.2 ติดตามปฏิกิริยาจากสีที่เปลี่ยนแปลงโดยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี

การทดลองทำโดยใช้แอนโทไซยานินที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น 0.6-0.7 ซึ่งเตรียมจากแอนโทไซยานินเข้มข้น 0.0713 g/25 mL ทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 3% หยด $CuSO_4$ 0.03 M 1 หยดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ แสดงตัวอย่างของผลในรูปที่ 20 จากกราฟความสัมพันธ์ของปฏิกิริยาอันดับต่างๆ พบว่าเฉพาะกราฟความสัมพันธ์ปฏิกิริยาอันดับ 1 ที่มีลักษณะเป็นเส้นตรง และมีค่า R^2 จากสมการเส้นตรงในช่วง 0.9925-0.9948 และเมื่อทำการหาครึ่งชีวิต จะเห็นว่าเวลาในครึ่งชีวิตที่ 1 และ 2 ใกล้เคียงกัน คือ 9.5 และ 10 ซึ่งช่วยยืนยันการเกิดปฏิกิริยาอันดับ 1 โดยเวลาที่ใช้ในการบันทึกค่าการดูดกลืนแสงจนคงที่อยู่ในช่วง 19.0 - 20.5 นาที



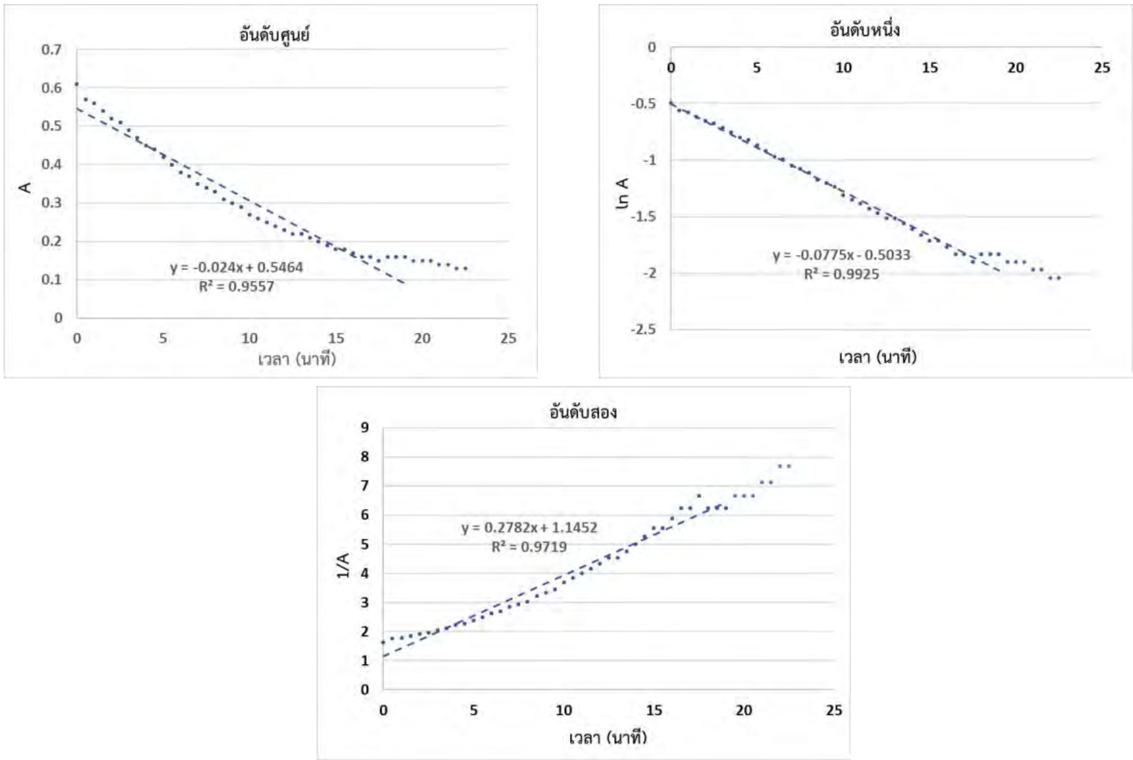
รูปที่ 20 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเข้มเข้น 0.0713 g/25 mL
เมื่อใช้ H_2O_2 3% และ$CuSO_4$ 0.03 M

เพื่อทดสอบความเป็นไปได้ในการใช้ปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินมาใช้เป็นปฏิบัติการสำหรับการศึกษาจลนพลศาสตร์ในรายวิชาปฏิบัติการเคมีทั่วไป 1 ได้มีการเพิ่มกลุ่มตัวอย่างในการทดสอบวิธีทดลอง โดยมีนิสิตปริญญาตรี และปริญญาโทของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเพิ่มเติมจากผู้วิจัยอีก 10 คน ช่วยทดสอบ โดยให้ผู้ทดสอบแต่ละท่านใช้สารละลายแอนโทไซยานิน A0.6-0.7 ที่เตรียมแยกกัน 3 สารละลาย (เข้มข้น 0.715 g/250 mL, 0.726 g/250 mL และ 0.772 g/250 mL) เพื่อจำลองสถานการณ์ในห้องปฏิบัติการจริง

ผลการทดสอบทั้ง 30 ครั้งพบว่ากราฟการหาอันดับปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1 ทั้งหมด ทั้งนี้ แสดงตัวอย่างของผลการทดลองโดยกลุ่มตัวอย่างในตารางที่ 7 ข้อมูลเวลาที่ใช้จนค่าการดูกลืนแสงคงที่ ค่า R^2 ของ linear regression ของปฏิกิริยาอันดับต่างๆ สมการเส้นตรงของปฏิกิริยาอันดับ 1 ค่าคงที่อัตรา และครึ่งชีวิตของผลการทดสอบทั้ง 33 ครั้ง คือ ของผู้วิจัย 3 ครั้ง และกลุ่มตัวอย่างอีก 30 ครั้ง ตารางที่ 7 พบเวลาที่ใช้ทำการทดลองจนค่าการดูดกลืนแสงคงที่ที่อยู่ในช่วง 18 – 23 นาที คิดเป็นค่าเฉลี่ย 20 นาที การค่าคงที่อัตรามีค่า 0.0418-0.09003 และค่า $t_{1/2}$ มีค่า 7.68 – 16.58 คิดเป็นค่าเฉลี่ย 10 นาทีหากตัดค่าที่แตกต่างจากค่าอื่น (outlier) ออก หากพิจารณาจากผู้ทำการทดลองคนเดิม เช่น คนที่ 1 พบว่า ค่าคงที่อัตรา และค่า $t_{1/2}$ มีค่า 0.0628-0.0775 และ 8.94-11.04 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่ใกล้เคียงกัน สังเกตว่าแม้ค่าคงที่อัตราและครึ่งชีวิตของการทดลองทั้ง 33 ครั้ง จะมีความแตกต่างกันอยู่บ้าง แต่เมื่อพิจารณาค่า R^2

ของการหาอันดับปฏิกิริยาของข้อมูลชุดเดียวกัน พบว่าได้ปฏิกิริยาอันดับ 1 เสมอ สำหรับค่าคงที่อัตราและและครึ่งชีวิตของการทดลองบางอันที่มีค่าแตกต่างจากของชุดอื่น (เช่น ครั้งที่ 6) พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่จุดท้ายๆ มีค่าสูงกว่าของการทดลองชุดอื่น ซึ่งเป็นไปได้ว่าอาจคนสารละลายไม่ทั่วถึง

จากผลการทดสอบการศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินที่ได้ แสดงให้เห็นโอกาสในการนำไปปรับใช้แทนการทดลองเดิมที่ใช้สารละลาย $K_2Cr_2O_7$ ทั้งนี้เนื่องจากในห้องปฏิบัติการเคมีทั่วไปมีเครื่องสเปกโทรนิค 21 อยู่จำนวนห้องละ 8 – 9 เครื่องต่อนิสิตไม่เกิน 60 คน หากให้นิสิตทำการทดลองเป็นคู่ จะต้องใช้เครื่องสเปกโทรนิค 21 เครื่องละ 4 รอบ รอบละไม่เกิน 25 นาที ซึ่งพอมีความเป็นไปได้ หรือหากให้นิสิตทำการทดลองเป็นกลุ่ม กลุ่มละ 4 คน จะจัดการทดลองได้สะดวกขึ้น นอกจากนี้ การออกแบบให้ทำการทดลองในคิวเวตโดยตรง ปริมาตร 5 mL ต่อครั้ง ส่งผลให้วิธีนี้ทำให้เกิดของเสียไม่เกินปีละ 4 ลิตรจากการสอนนิสิต 400 คู่ ลดลงจากการทดลองที่ใช้ $K_2Cr_2O_7$ ซึ่งมีของเสีย 24 ลิตรต่อปี และยังนับเป็นที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย



รูปที่ 21 อันดับของปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเข้มข้น 0.715 g/250 mL
เมื่อใช้ H_2O_2 3% และ$CuSO_4$ 0.03 M

ตารางที่ 7 เวลาที่ใช้จนค่าการดูดกลืนแสงคงที่ ค่า R^2 ของปฏิกิริยาอันดับต่างๆและสมการเส้นตรง ค่าคงที่อัตรา และครึ่งชีวิตของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ของกลุ่มตัวอย่าง

ครั้งที่	t_{const} (min)	อันดับศูนย์	อันดับหนึ่ง				อันดับสอง
		R^2	สมการเส้นตรง	R^2	k	$t_{1/2}$	R^2
1*	20.0	0.9621	y = -0.0715x - 0.4435	0.9957	0.0715	9.69	0.9768
2*	20.5	0.9648	y = -0.0762x - 0.3936	0.9948	0.0762	9.10	0.970
3*	19.0	0.9621	y = -0.0711x - 0.4319	0.9925	0.0711	9.75	0.9774
4	19.0	0.9557	y = -0.0775x - 0.5033	0.9925	0.0775	8.94	0.9719
5	18.5	0.9723	y = -0.0851x - 0.4562	0.9963	0.0851	8.15	0.9963
6	23.0	0.9876	y = -0.0426x - 0.376	0.9975	0.0426	16.27	0.9841
7	21.5	0.9721	y = -0.0599x - 0.4549	0.9967	0.0599	11.57	0.9718
8	20.0	0.9792	y = -0.0694x - 0.3953	0.9894	0.0694	9.99	0.9445
9	22.5	0.9509	y = -0.0755x - 0.452	0.9979	0.0755	9.18	0.9696
10	19.0	0.9775	y = -0.0437x - 0.4061	0.9965	0.0437	15.86	0.9929
11	22.0	0.9719	y = -0.0572x - 0.4383	0.9985	0.0572	12.12	0.9792
12	21.5	0.9402	y = -0.0646x - 0.4344	0.9953	0.0646	10.73	0.9631
13	18.0	0.9744	y = -0.0518x - 0.4524	0.9978	0.0518	13.38	0.9901
14	22.0	0.9662	y = -0.0628x - 0.4889	0.9989	0.0628	11.04	0.971
15	18.0	0.9698	y = -0.0903x - 0.4098	0.9955	0.0903	7.68	0.964
16	20.5	0.9402	y = -0.0846x - 0.4344	0.9963	0.0846	8.19	0.9641
17	19.0	0.9546	y = -0.0755x - 0.4071	0.9962	0.0755	9.18	0.9602
18	21.5	0.9822	y = -0.0699x - 0.4912	0.9886	0.0699	9.92	0.9436
19	21.0	0.9548	y = -0.0752x - 0.4264	0.9976	0.0752	9.22	0.9669
20	20.0	0.9764	y = -0.0418x - 0.4524	0.9977	0.0418	16.58	0.9903
21	19.5	0.9585	y = -0.0699x - 0.4689	0.9982	0.0699	9.92	0.971
22	20.5	0.9742	y = -0.0684x - 0.3953	0.9894	0.0684	10.13	0.971
23	22.5	0.9521	y = -0.0597x - 0.4549	0.9987	0.0597	11.61	0.964
24	18.5	0.9776	y = -0.0753x - 0.4293	0.9971	0.0753	9.21	0.9626
25	18.0	0.9805	y = -0.0756x - 0.391	0.995	0.0756	9.17	0.9689
26	20.0	0.9427	y = -0.0798x - 0.4172	0.9937	0.0798	8.69	0.9633
27	22.5	0.9774	y = -0.0451x - 0.5241	0.9959	0.0451	15.37	0.9896
28	18.5	0.9822	y = -0.0699x - 0.4912	0.9886	0.0699	9.92	0.9436
29	21.5	0.9639	y = -0.0714x - 0.4185	0.9963	0.0714	9.71	0.9594
30	18.0	0.9612	y = -0.0569x - 0.4252	0.9979	0.0569	12.18	0.9863
31	18.0	0.936	y = -0.0778x - 0.4796	0.999	0.0778	8.91	0.9736
32	20.5	0.9685	y = -0.0695x - 0.4689	0.9982	0.0695	9.97	0.9721
33	19.5	0.9521	y = -0.0589x - 0.4549	0.9987	0.0589	11.77	0.9738

*โดยผู้วิจัย

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานิน โดยให้แอนโทไซยานินทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในปริมาณมากๆ พบว่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมต่อการติดตามการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงคือที่ความยาวคลื่น 570 nm เมื่อติดตามปฏิกิริยาจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไปผ่านเครื่องสเปกโทรนิค 21 ทุกๆ 30 วินาที พบว่าอันดับปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นปฏิกิริยาอันดับ 1 โดยความเข้มข้นของแอนโทไซยานินที่เหมาะสมคือสารละลายที่ดูดกลืนแสงในช่วง 0.6 – 0.7

จากการศึกษาอันดับปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินเมื่อใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ (3-24%) พบว่าความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่เหมาะสมคือ 3%

จากการศึกษาผลของตัวเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของแอนโทไซยานินด้วย $CuSO_4$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.01-0.05 M) โดยตัวเร่งปฏิกิริยา 1 หยด พบว่า $CuSO_4$ เข้มข้น 0.03 M เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม ช่วยลดการทำปฏิกิริยาลงจาก 28 นาที ให้เหลือประมาณ 18 นาที โดยยังคงเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

จากการทดสอบวิธีการทดลองจากภาวะที่ดีที่สุดโดยกลุ่มตัวอย่าง 11 คน ทั้งหมด 33 ซ้ำ พบว่าผลการทดลองสอดคล้องกับปฏิกิริยาอันดับหนึ่งมากที่สุดทุกครั้ง เวลาที่ใช้ในการทดลองประมาณ 20 นาที มีค่าคงที่อัตราในช่วง 0.0418-0.09003 และค่า $t_{1/2}$ ในช่วง 10 นาที เนื่องจากข้อจำกัดของอุปกรณ์ ซึ่งแม้เวลาที่ใช้ในการทดลองค่อนข้างนาน แต่มีความเป็นไปได้หากทำการทดลองเป็นกลุ่ม ทั้งนี้ การให้ความร้อนแก่สารละลายแอนโทไซยานิน หรือเปลี่ยนไปศึกษาสีย้อมธรรมชาติชนิดอื่นที่เสถียรน้อยกว่าแอนโทไซยานิน เช่น เบต้าแคโรทีน ก็อาจได้การทดลองที่เหมาะสมสำหรับการเรียนการสอนสำหรับนิสิตชั้นปีที่ 1 ได้โดยไม่ทำให้เกิดของเสียที่เป็นพิษ

เอกสารอ้างอิง

1 คณะผู้จัดทำ. คู่มือปฏิบัติการเคมีทั่วไป 1. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2561, 99, 95-99.

2 L. Bretherick. Cobalt complexes dangerous. J. Chem. Educ., 1970, 47, pp 204.

3 Potassium dichromate solution SDS Available at: https://www.merckmillipore.com/Web-TH-Site/en_US/-/THB/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA_CHEM-109928&Origin=PDP Accessed December 28, 2018.

4 การจำแนกของเสีย Available at: http://chemsafe.chula.ac.th/?page_id= Accessed April 20, 2019

5 จำนวนนิสิตระดับปริญญาตรีภาคการศึกษาปลาย ปีการศึกษา 2561 Available at: https://www.reg.chula.ac.th/statistics/statistics-three.html Accessed April 10, 2019.

6 อมรรัตน์ อนันต์วราพงษ์, พีรพงษ์ หนูแดง, บุณฑริกา ปริมาณ, สถาพร จิรบูรณ์, ศุภาสี วงษ์ทองดี. The Product Development of Batik using Natural Dyes Mixing Technique. วารสารวิชาการแพรวากาฬสินธุ์, 2560, 237, 207-222.

7 K. R. Galloway, S. L. Bretz, M. Novak. Paper Chromatography and UV-Vis Spectroscopy to Characterize Anthocyanins and Investigate Antioxidant Properties in the Organic Teaching Laboratory. J. Chem. Educ., 2015, 92, pp 183–188.

8 I. Ifie, L. J. Marshall, P. Ho, G. Williamson. Hibiscus sabdariffa (Roselle) Extracts and Wine: Phytochemical Profile, Physicochemical Properties, and Carbohydrase. J. Agric. Food Chem., 2016, 64, pp 4921–4931.

9 สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2553, ประมวลสารสนเทศพร้อมใช้: แอนโทไซยานิน (Anthocyanin), กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, กรุงเทพฯ. หน้า 1-16.

10 โปรแกรม ImageJ Available at https://sites.google.com/site/thaiimagej/ Accessed December 1, 2018.

11 M. Özkan, A. Yemenicioglu, N. Asefi, B. Cemeroglu. Degradation Kinetics of Anthocyanins from Sour Cherry, Pomegranate, and Strawberry Juices by Hydrogen Peroxide. J. Agric. Food Chem., 2008, 56, pp 8387–8393.

12 E. Nikkhah, M. Khaiamy, R. Heaiamy, A. S. Azar. The effect of ascorbic acid and H_2O_2 treatment on the stability of anthocyanin pigments in berries. Turkish Journal of Biology, 2010, 34, pp 47-53.

13 J. Sun, Z. Mei, Y. Tang, L. Ding, G. Jiang, C. Zhang, A. Sun, W. Bai. Stability, Antioxidant Capacity and Degradation Kinetics of Pelargonidin-3-glucoside Exposed to Ultrasound Power at Low Temperature. Molecules. 2016, 21, pp 1109-1130.

14 E. Sondheimer, Z. I. Kertesz. The kinetics of oxidation of strawberry anthocyanin by hydrogen peroxide. Journal of Food Science. 1952, 17, pp 288-298

15 I. Odriozola-Serrano, R. Soliva-Fortuny, V. Gimeno-Añó, O. Martín-Belloso. Kinetic Study of Anthocyanins, Vitamin C, and Antioxidant Capacity in Strawberry Juices Treated by High-Intensity Pulsed Electric Fields. J. Agric. Food Chem., 2008, 56, pp 8387–8393.

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวมาลินี กาฬภักดี เกิดเมื่อวันที่ 24 เดือนตุลาคม พ.ศ.2539 ที่จังหวัดสุพรรณบุรี สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนบรรหารแจ่มใสวิทยา 3 จังหวัดสุพรรณบุรี เมื่อปีการศึกษา 2557 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2558 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 13 หมู่ 6 ตำบลวังคัน อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี รหัสไปรษณีย์ 72180 อีเมล malimalinoon@gmail.com