การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 0.8-11.7

บัฟเฟอร์ pH 0.8 กรดออกซาลิก 1 โมล/ลิตร 20 ลบ.ซม. ผสมกับโซเดียมออกซาเลต 1 โมล/ลิตร 20 ลบ.ซม. ปรับ pH ให้ได้ 0.8 โดยเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 โมล/ลิตร ทีละหยดอยู่เรื่อย ๆ แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1 ลิตร

บัฟเฟอร์ pH 2.9 กรดอะซิติกเข้มข้น จำนวน 5.6 ลบ.ซม. ผสมกับโซเดียมอะซิเตต 0.3 โมล/ลิตร ในปริมาณที่เท่ากันปรับ pH โดยเติมกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมล/ลิตร ทีละหยดอยู่เรื่อย ๆ แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1 ลิตร

บัฟเฟอร์ pH 3.8 กรดอะซิติกเข้มข้น จำนวน 5.6 ลบ.ซม. ผสมน้ำกลั่น 900 ลบ.ซม. ปรับ pH ให้ได้ 3.8 โดยเติมกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมล/ลิตร ทีละหยดอยู่เรื่อย ๆ แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1 ลิตร

บัฟเฟอร์ pH 6.5 โซเดียมซัลเฟต 0.02 โมล/ลิตร จำนวน 50 ลบ.ซม. ปรับ pH ด้วยกรดซัลฟิวริก 0.1 โมล/ลิตร ทีละหยดอยู่เรื่อย ๆ จนมีปริมาตร 1 ลิตร

บัฟเฟอร์ pH 7.0 โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.02 โมล/ลิตร จำนวน 50 ลบ.ซม.

บัฟเฟอร์ pH 8.0 โซเดียมซัลเฟต 0.05 โมล/ลิตร ในสารผสม EDTA 0.02 โมล/ลิตร ในอัตราส่วนเท่า ๆ กัน และ Tris-base 0.1 โมล/ลิตร จนมี pH 8

บัฟเฟอร์ pH 9.0 แอมโมเนียมคลอไรด์ 1 โมล/ลิตร ผสมกับแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น (ถพ 0.88) ปริมาตร 55.2 ลบ.ซม. กับน้ำกลั่น 800 ลบ.ซม. ปรับ pH ให้ได้ 9 โดยเติมกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมล/ลิตร ทีละหยดอยู่เรื่อย ๆ แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1 ลิตร

บัฟเฟอร์ pH 11.7 แอมโมเนียมคลอไรด์ 1 โมล/ลิตร ผสมกับแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น (ถพ 0.88) ปริมาตร 50 ลบ.ซม. เท่า ๆ กัน เติมน้ำกลั่น 80 ลบ.ซม. ปรับ pH ให้ได้ 11.7 โดยเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมล/ลิตร ทีละหยดอยู่เรื่อย ๆ แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1 ลิตร

ศึกษาจาก **Modern Methods of Chemical Analysis** ของ Robert Pecsok และคณะ (1976)

สรุปผลและอภิปรายโครงงานวิทยาศาสตร์เรื่อง แอนโทไซยานินของใบอ่อนและใบสีเขียวของพืชบางชนิด

ผลของการทดลองได้เป็นไปตามวัตถุประสงค์และสมมติฐาน ดังนี้

1. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 โมล/ลิตร สกัดแอนโทไซยานินของใบอ่อนของหูกวาง, สายหยุด ได้สีแดงส้ม ; แอนโทไซยานินของใบอ่อนของอโศกและเข็มแดงได้สีชมพู แต่สารที่สกัดจากใบสีเขียวของหูกวาง, สายหยุด, อโศกและเข็มแดง ไม่ปรากฏสีแดง-ส้ม-ชมพู หากจะสังเกตได้เฉพาะสีเหลือง

2. ใบอ่อนของหูกวาง, สายหยุด, อโศกและเข็มแดง เมื่อสกัดได้แอนโทไซยานินมีการเปลี่ยนสีเมื่อ pH เปลี่ยนแปลง คือ ที่ pH 0.8 แอนโทไซยานินของใบอ่อนของใบหูกวาง, สายหยุดเป็นสีแดงส้ม, อโศกและเข็มแดงเป็นสีชมพู ; pH 3 สีคล้ายกับที่ pH 0.8 แต่สีจางลง ; ที่ pH 7 สีของสารจางลงมาก ; pH 8 แอนโทไซยานินของใบอ่อนของหูกวาง, สายหยุดเป็นสีส้มม่วง ; ของอโศกและเข็มแดงเป็นสีชมพูม่วง ; ที่ pH 12 แอนโทไซยานินของใบหูกวางเป็นสีม่วง-น้ำเงิน-เหลือง, ของใบสายหยุดเป็นสีม่วงเหลือง, ของอโศกเป็นสีม่วง-น้ำเงินอ่อนและของใบเข็มแดงได้สีม่วงเหลือง

ส่วนใบสีเขียวของหูกวางที่สกัดด้วย 1 M HCl จะเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองแกมน้ำตาลแกมเขียว ที่ pH 12 ; ใบสีเขียวของสายหยุด, อโศกและเข็มแดงที่สกัดด้วย 1 M HCl มีสีเหลืองเข้มขึ้นในเบส

3. ในการหาความเข้มข้นของแอนโทไซยานินของใบอ่อนและใบสีเขียวของพืช โดยทำปฏิกิริยากับ 0.1 M $FeCl_3$ ให้สารสีน้ำเงิน ; ใบอ่อนของหูกวางมีแอนโทไซยานินมากที่สุด (อัตราส่วนความเข้มข้นเปรียบเทียบปริมาตรของ $FeCl_3$ /แอนโทไซยานินิดิน) แอนโทไซยานินของใบสีเขียวของหูกวางมีเป็นลำดับที่ 2

อภิปรายผลการทดลอง

1. แอนโทไซยานินของใบหูกวาง, ใบสายหยุด, ใบอโศกและใบเข็มแดง มีในใบอ่อนมากกว่าใบสีเขียว การทดสอบสมบัติแอนโทไซยานินโดยการทดลองการเปลี่ยนสี เมื่อ pH เปลี่ยนและการทดลองทำปฏิกิริยากับสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ จึงสามารถอธิบายการเกิดแอนโทไซยานินและความเข้มข้นของแอนโทไซยานินได้

2. แอนโทไซยานินของใบอ่อนของหูกวางและสายหยุดมีสีแดงส้ม ซึ่งเป็นสีของแอนโทไซยานินกลุ่ม pelargonidin ส่วนแอนโทไซยานินของใบอ่อนของอโศกและของเข็มแดงเป็นสีชมพู (หรือแดงม่วง) ซึ่งเป็นแอนโทไซยานินกลุ่ม cyanidin

สรุปผลและอภิปรายโครงงานวิทยาศาสตร์เรื่อง อินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ

การศึกษาแอนโทไซยานินของพืชได้เป็นไปตามวัตถุประสงค์และสมมติฐาน ดังนี้

1. ในการใช้สารละลายผสมของ เมทานอล -1 M HCl (11 : 2 โดยปริมาตร/ปริมาตร) สกัดแอนโทไซยานินของใบหูกวาง = สีแดงส้ม ; ของใบอ่อนของอโศก, ใบโกสน, ดอกเข็ม, ดอกหางนกยูง = สีม่วงแดง ; ดอกผกากรองสีเหลืองและดอกผกากรองสีเหลืองแกมม่วง = น้ำเงินอ่อนแกมเขียว ; pH ของแอนโทไซยานินของพืชทั้ง 7 ชนิด = 0.8

2. การศึกษาการเปลี่ยนสีของแอนโทไซยานินที่ pH 3, 7, 8 และ 12 ได้ผล ดังนี้ ที่ pH = 3 สีของแอนโทไซยานินของพืชจะจางลงเล็กน้อย ; ที่ pH 8 ปรากฏสีม่วง ยกเว้นแอนโทไซยานินของดอกผกากรองสีเหลืองและดอกผกากรองสีเหลืองแกมม่วง ทั้งสองกลุ่มเปลี่ยนสีเป็นสีเหลือง ; ที่ pH 12 ปรากฏสีน้ำเงิน-เขียว-เหลือง ส่วนแอนโทไซยานินดอกผกากรองเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองแกมเขียวอ่อน

3. ผลจากข้อ 2 ซึ่งแสดงว่าแอนโทไซยานินของพืชที่ได้ทดลองมีสมบัติเป็นอินดิเคเตอร์ คือการเปลี่ยนสีเมื่อ pH เปลี่ยน จึงใช้เป็นอินดิเคเตอร์ทดสอบกรด-เบสได้

อภิปรายผล

แอนโทไซยานินของพืชจะเปลี่ยนสีเป็นสีแดง-ส้ม-ม่วง เมื่อ pH < 7 ; จะเปลี่ยนสีเป็นสีม่วง-น้ำเงิน เมื่อ pH > 7 การเปลี่ยนสีเมื่อ pH > 7 เกิดรงควัตถุสีเหลืองและสีเขียว สีเขียวของแอนโทไซยานินอาจเกิดจากรงควัตถุสีน้ำเงินผสมเหลือง เพราะในการหยดสารละลายที่มี pH 12 จะเกิดสีน้ำเงินแล้วเปลี่ยนเป็นตะกอนเหลือง รอยต่อระหว่างสีน้ำเงินและเหลืองนั้นเกิดสีเขียวขึ้น

จากตารางที่ 3 ช่วง pH ของอินดิเคเตอร์สามัญบางชนิดมีช่วงสั้นกว่าช่วง pH ของแอนโทไซยานินของพืชที่ศึกษา ทั้งนี้เพราะแอนโทไซยานินของพืชมีรงควัตถุที่เป็นองค์ประกอบหลายชนิดที่เปลี่ยนสีเมื่อ pH เปลี่ยนแปลง แอนโทไซยานินของพืชจึงใช้ทดสอบโดยมีความแม่นยำน้อยกว่าอินดิเคเตอร์สามัญ