การวิเคราะห์สารสีผสมอาหารที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารโดยไม่ใช้เครื่องวัดสี

(Determination of Food Colorants in Food Industries without a Colorimeter)

จิระศักดิ์ เกษร์สุวรรณ

สำนักส่งเสริมและพัฒนางานวิจัย มหาวิทยาลัยสยาม

235 ถนนเพชรเกษม เขตภาษีเจริญ กรุงเทพฯ 10160

02-457-0068, 02-457-3982, E-mail : jkatsuwon@yahoo.com

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้ศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงสี ผสมอาหารมาตรฐานสากล สีเหลือง สีแดง สีชมพู และสีฟ้า มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 483, 510, 529 และ 635 นาโนเมตร ตามลำดับ วัดค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มสีของสารละลายสีทุกตัวอย่างที่เตรียมขึ้นให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.04-40 นาโนโมลต่อมิลลิลิตร จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์และวิเคราะห์ค่าสีของตัวอย่างเหล่านั้นจากภาพถ่ายด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ภาพถ่ายพบว่าค่าที่วัดได้จากทั้ง 2 วิธี มีความสัมพันธ์เชิงเส้น เมื่อได้ทำการศึกษาสารละลายสีที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมีในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีไบยูเรต พบว่าการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์และจากภาพถ่ายซึ่งวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม วิเคราะห์ภาพถ่ายให้ผลเป็นไปในทางเดียวกันกับการทดลองโดยใช้สารสีมาตรฐาน

คำสำคัญ: ค่าการดูดกลืนแสง สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ วิเคราะห์ค่าสีจากจากภาพถ่าย

Abstract

This research work examines a change in widely accept food colorants; yellow, red, pink and blue, with the maximum absorbances of 483, 519, 529, and 635 nm The concentration of colorant solutions are 0.04 to 40 nanomoles per milliliter. The study involves the absorbtion of colorant solutions using spectrophotometer and color analysis from the color imaging technique. The comparison between the two techniques yield linear relationships.The study progress toward the examination the color of proteins. The proteins were prepared by the biuret method. The linear relationships of the absorbtion determined using the spectrophotometer and color imaging analysis were obtained.

Key words: absorbtion, spectrophotometer , color imaging analysis

1. บทนำ

สีที่ได้รับการรับรองให้ใช้กับอาหารจะเป็นประเภทดาย(dye) หรือ เลค(lake) ดายเป็นสีที่มีแหล่งกำเนิดจากพวกพืช ละลายได้ดีในน้ำใช้เป็นสีผสมในอาหารประเภทอบ เครื่องดื่ม ขนมหวาน ผลิตภัณฑ์นม[1] ในขณะที่เลคจะมีส่วนผสมของสารอนินทรีย์ สารอินทรีย์ หรือโลหะบางอย่างอยู่ในองค์ประกอบ คงตัวได้ดีกว่า เลคสามารถกระจายตัวได้ดีในน้ำมันใช้กับอาหารที่มีลักษณะของการเคลือบสี ลูกกวาด เค้ก โดนัท[2] ตัวอย่างสีที่ได้รับการรับรองในสหรัฐว่าสามารถใช้กับอาหารได้ในปี 2550 ได้แก่ brilliant blue FCF E133, indigotine E132, fast green FCF E143, allura red AC E129, erythrosine E127, tartrazine E102, และ sunset yellow FCF E110

ในการทดลองครั้งนี้ทำการทดลองโดยใช้สีที่ได้ยอมรับในการใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร[3] การวัดการเปลี่ยนแปลงของสีเป็นการวิเคราะห์คุณภาพที่ทำได้โดยการเทียบกับแผ่นสีมาตรฐาน ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายสะดวกและรวดเร็ว แต่ไม่ครอบคลุมสีทั้งหมด

การวัดสีโดยตรงด้วยเครื่องมือวัดสีเป็นการวัดที่มีความแม่นยำสูงแต่ต้องใช้เครื่องมือราคาสูง

และในขณะที่การวัดสีจากการวิเคราะห์ทางเคมี เช่น การหาปริมาณของสารที่ก่อให้เกิดสี โดยการวิเคราะห์ทางสเปคโตรสโกปี แม้จะนิยมกันแพร่หลาย แต่การวัดสีด้วยวิธีนี้จะต้องทำการสกัดสารจากตัวอย่าง ซึ่งเป็นการวิเคราะห์แบบทำลายตัวอย่าง[4]

ในขณะที่การวิเคราะห์ปริมาณสารสีโดยหลักการวิเคราะห์สีจากภาพถ่ายจะข้ามข้อจำกัดทั้งหลายในวิธีที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

ในการทดลองนี้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสีโดยทำการศึกษาเปรียบเทียบการวิเคราะห์สีของสารละลายสีผสมอาหารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยวัดค่าสีด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์[5] ในช่วงการดูดกลืนแสง 400-800 นาโนเมตร

และการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์วิเคราะห์ค่าของสีแสดงเป็นตัวเลขในรูปของค่าสีเขียวในระบบสี สีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน[6] โดยทำการบันทึกภาพสีของสารละลายสีผสมอาหารด้วยกล้องวิดีโอที่เชื่อมต่อกับเครื่องคอมพิวเตอร์วิเคราะห์ผล เพื่อใช้เป็นแนวทางในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีแบบไม่ทำลายผลิตภัณฑ์จากการบด การสกัด และการละลาย เพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์

2. วิธีดำเนินการ

2.1 สารเคมีและวัสดุ

1. สารสีเหลือง disodium2- hydroxyl-1-(4- sulfonatophenylazo)naphthalene-6-sulfonate

2. สารสีแดง trisodium2-hydroxyl-1-(4-sulfonato-1-nephthylazo)naphthalene-6,8-disulfonate

3. สารสีชมพู disodium2-(2-,4,5,7-tetraiodo-3-oxido-6-oxoxanthen-9-yl)benzoate monohydrate

4. สารสีฟ้า disodiumalpha-(4-(N-ethyl-3-sulfonatobenzyl amino) phenyl)-alpha-(4-N-ethyl 3- sulfonatobenzylamino, cyclohexa-2,5-dienylidene)toluene-6-sulfonate จากบริษัท Roha Dyeclean ประเทศอินเดีย

5. สารละลายเอทธานอล 10%

6. โปรตีนมาตรฐาน (Bovine Serum Albumin; BSA) จากบริษัท Fluka

7. แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (absolute alcohol 99%)

8. คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)

9. โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรท (Na-K tartrate)

10. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

11. โปตัสเซียมไอโอไดด์ (KI)

12. น้ำกลั่น

2.2 อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งสาร ทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น AE-200

2. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงสเปคโตรโฟโตมิเตอร์รุ่น UV-1601 ยี่ห้อ Shimadzu

3. เครื่องคอมพิวเตอร์ที่มีโปรแกรมการใช้งาน

4. เครื่องสเปคโตโฟโตมิเตอร์รุ่น 1.06H ยี่ห้อ Thunderbird

5. โปรแกรมถ่ายภาพ Mil

6. โปรแกรมวัดสี Image-Pro Plus 3.0

7. โคมไฟเมทัลฮาไลท์

8. กล้องโซนี่ PC 1

9. ปิเปตต์

2.3 วิธีการทดลอง

ทดลองเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายสีเหลือง สีแดง สีชมพู และสีฟ้า จากสเปคโตรโฟโตมิเตอร์กับค่าสีที่วิเคราะห์จากภาพถ่าย ซึ่งมีขั้นตอนในการทดลองดังนี้

1. การเตรียมสารละลายสีมาตรฐาน นำสีมาตรฐานที่ใช้ในการศึกษาคือ สีเหลือง สีแดง สีฟ้า และสีชมพู ปริมาณ 10 มิลลิกรัม มาละลายในสารละลายเอทธานอลเข้มข้น 10% เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียสในที่มืด

2. การหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของสารละลายสีมาตรฐานนำสารละลายสีมาตรฐานที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาสแกนหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของแต่ละสีในช่วง 400-800 นาโนเมตร

3. ทดลองหาความสัมพันธ์ของค่าสีที่วัดได้กับปริมาณของสารโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ Mil และ Image Pro Plus 3.0 โดยทำการวิเคราะห์ผลของค่าแสงสีเขียว ในระบบแสงสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน วางตำแหน่งสารที่ต้องการวัดให้อยู่ในหลอดทดลองปริมาตร10 มิลลิลิตร จับยึดไว้บนขาตั้ง สูงจากพื้น 25 เซนติเมตรในระยะห่างจากกล้องถ่ายภาพโซนี่ PC-1 เป็นระยะห่าง 80 เซนติเมตร โดย

ให้แหล่งกำเนิดแสงมีระยะห่างจากหลอดทดลองเป็นระยะห่าง 60 เซนติเมตรโดยให้แสงมีปริมาณโฟตอนที่คงที่หลังจากทำการปล่อยแสงนาน 10 นาทีผ่านสัญญานภาพของหลอดทดลองจากกล้องถ่ายภาพ โซนี่ PC-1 เข้าสู่คอมพิวเตอร์ โดยแปลงสัญญานภาพผ่านการ์ด Meteor1 จากนั้นคำนวณค่าของสีที่วัดได้

4. ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณสารสีมาตรฐานที่วัดได้จากสเปคโตรโฟโตมิเตอร์กับการวัดปริมาณของสีจากภาพถ่าย

-เตรียมสารละลายสีมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆโดยนำสารละลายสี เหลือง สีแดง สีชมพู และสีฟ้าที่อยู่ในสารละลายเอทธานอลที่ความเข้มข้น 10% ซึ่งเก็บไว้ที่ 4 องศาเซนเซียสในที่มืดมาทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นของสารในช่วง 0.04-40 นาโนโมลต่อมิลลิลิตรและวิเคราะห์เปรียบเทียบโดยวิธีสเปคโตรสโคปีกับการวิเคราะห์จากภาพถ่าย จากนั้นหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสาร ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าสีจากภาพถ่าย

5. ศึกษาความสัมพันธ์จากการวิเคราะห์หาโปรตีนโดยวิธีไบยูเรต[7] ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์กับค่าสีที่วัดจากภาพถ่าย

การเตรียมโปรตีนวิเคราะห์เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโดยวิธีไบยูเรต เตรียมสารละลาย BSA ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0-14 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเตรียมน้ำยาไบยูเรทโดยละลาย $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ปริมาณ 1.5 กรัม ผสมกับโซเดียมโปแตสเซียมทาร์เทรท 6 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 10% (w/v) ของ NaOH ปริมาตร 300 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร เติม KI จำนวน 1 กรัม ผสมให้เข้ากันและเก็บสารละลายในขวดพลาสติกที่มืด

6. วิธีการวิเคราะห์โดยวิธีไบยูเรต ดูดสารละลายโปรตีนมาตรฐานความเข้มข้นละ 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายไบยูเรตจำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และใช้น้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตรผสมกับสารละลายไบยูเรท 2 มิลลิลิตร เป็นสารเปรียบเทียบ ทำการการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรทด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์และจากภาพถ่าย นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ดังต่อไปนี้กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสาร กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง กับ ค่าสีจากภาพถ่าย

2.4 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลการหาค่าสหสัมพันธ์ของสมการเชิงเส้น [8]

3. ผลการวิจัย

3.1 พิจารณาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของสีมาตรฐาน

จากการทดลองหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสีมาตรฐานซึ่งได้แก่ สีเหลือง สีแดง สีชมพู สีฟ้า ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสีมาตรฐาน

สีมาตรฐาน	ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด(λ_{max})
สีเหลือง	483
สีแดง	510
สีชมพู	529
สีฟ้า	635

3.2 พิจารณาความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสีเหลืองวัดได้จากเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีเหลืองวิเคราะห์จากภาพถ่าย

จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงของสีเหลืองมาตรฐานด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีเหลืองมาตรฐานที่วิเคราะห์จากภาพถ่ายได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 2 มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าสีจากภาพถ่ายดังรูปที่ 1ก (คอลัมน์ ที่ 2 กับ 3) กราฟค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสารดังรูปที่ 1ข (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 2) กราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร ดังรูปที่ 1ค (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 3) และกราฟ ค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร รูปที่ 1ง (คอลัมน์ ที่ 3 กับ 4) โดยได้ผลลัพธ์ ค่า R^2 เท่ากับ 0.9841, 0.9967, 0.9869 และ 0.9713 ตามลำดับ

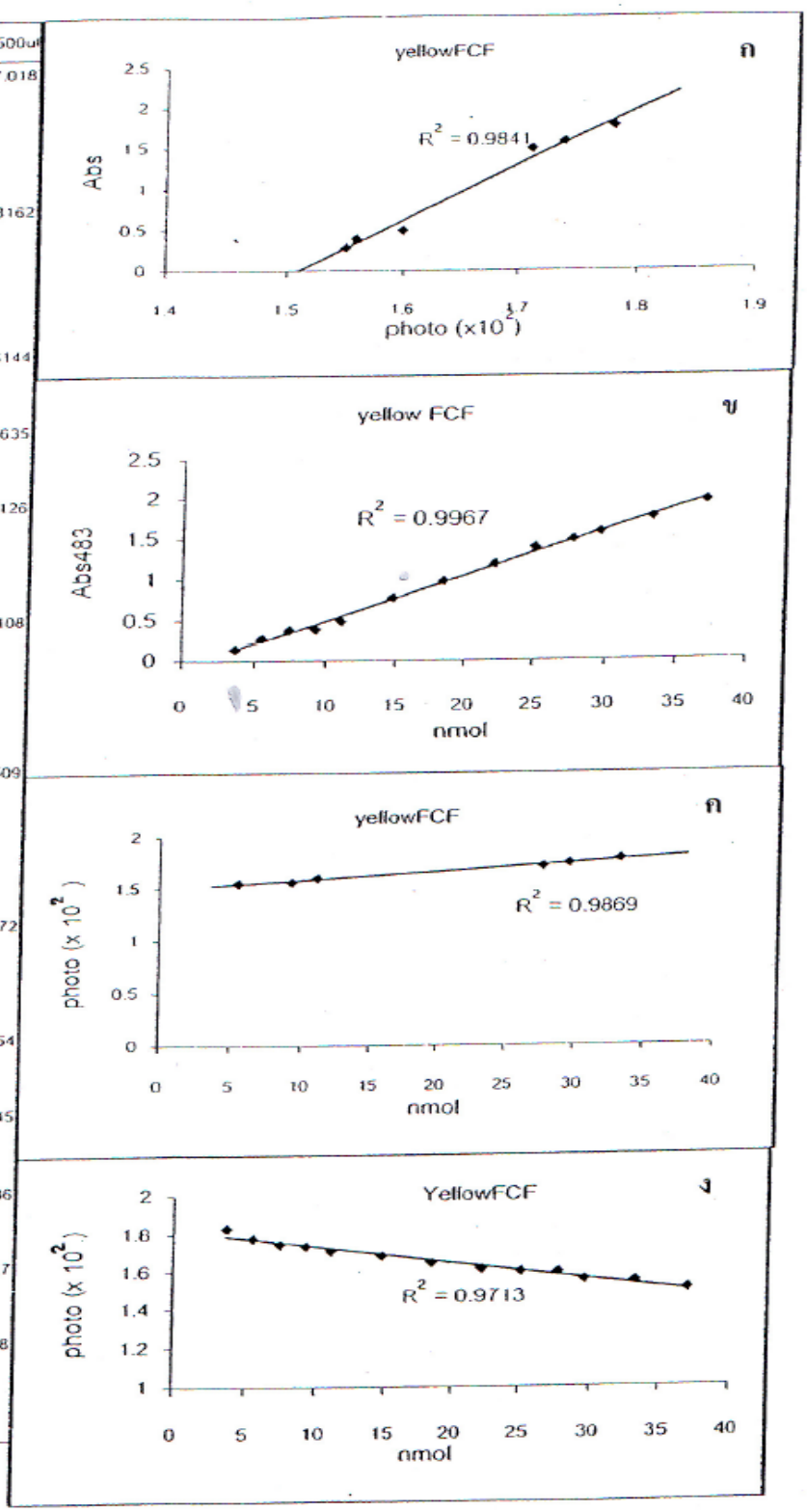
3.2 พิจารณาความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสีแดงวัดได้จากเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีแดงวิเคราะห์จากภาพถ่าย

จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงของสีแดงมาตรฐานด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีแดงมาตรฐานที่วิเคราะห์จากภาพถ่ายได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 2 มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าสีจากภาพถ่ายดังรูปที่ 1ก (คอลัมน์ ที่ 2 กับ 3) กราฟค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสารดังรูปที่ 1ข (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 2) กราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร ดังรูปที่ 1ค (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 3) และกราฟ ค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร รูปที่ 1ง (คอลัมน์ ที่ 3 กับ 4) โดยได้ผลลัพธ์ ค่า R^2 เท่ากับ 0.9841, 0.9967, 0.9869 และ 0.9713 ตามลำดับ

3.3 พิจารณาความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสีแดงวัดได้จากเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีแดงวิเคราะห์จากภาพถ่าย

จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงของสีแดงมาตรฐานด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีแดงมาตรฐานที่วิเคราะห์จากภาพถ่ายได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3 และเมื่อ

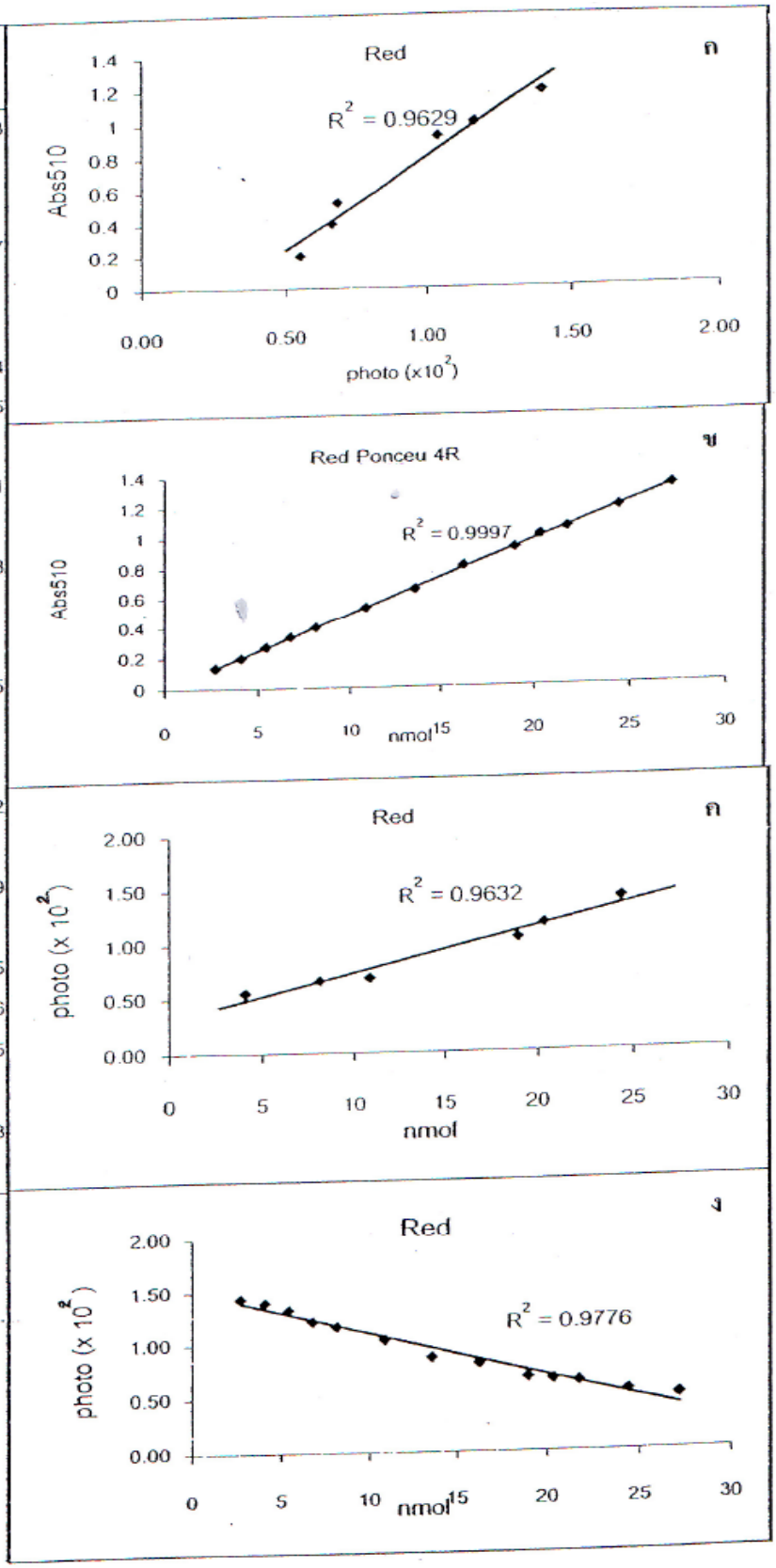
nmol/500ul	Abs483	photo(x10^2)	nmol/500ul
		1.5101	37.018
3.7018	0.14		
5.527	0.28	1.5506	33.3162
7.4036	0.391		
9.2545	0.394	1.5596	29.6144
11.1054	0.49	1.5999	27.7635
		1.6028	25.126
14.8072	0.774		
		1.6153	22.2108
18.509	0.982		
		1.6482	18.509
22.2108	1.189		
		1.686	14.8072
25.126	1.387		
27.7635	1.485	1.7116	11.1054
29.6144	1.574	1.7388	9.2545
		1.7484	7.4036
33.3162	1.762	1.7796	5.527
		1.8325	3.7018
37.018	1.964		



ตารางที่ 2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสีเหลือง
มาตรฐานด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีเหลืองมาตรฐานที่วิเคราะห์จากภาพถ่าย

รูปที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าสีเหลืองวิเคราะห์จากภาพถ่ายดังรูปที่ 1ก (คอลัมน์ ที่ 2 กับ 3) กราฟค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสารดังรูปที่ 1ข (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 2) กราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร ดังรูปที่ 1ค (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 3) และกราฟ ค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร รูปที่ 1ง (คอลัมน์ ที่ 3 กับ 4)

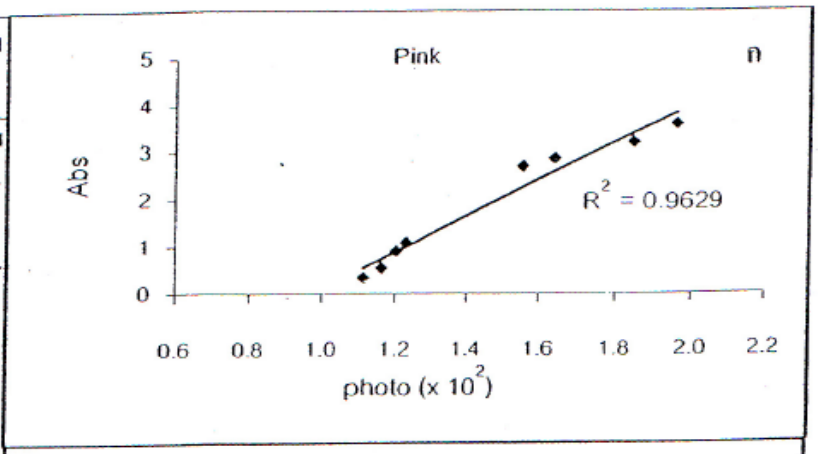
Red nmol 500 ul	Abs510	photo (x10^2)	Red nmol 500 ul
		0.50	27.13
2.713	0.135		
4.0695	0.1969	0.55	24.417
5.426	0.2705		
6.7825	0.3346		
		0.64	21.704
8.139	0.3966	0.66	20.3475
10.852	0.5264	0.68	18.991
		0.81	16.278
13.565	0.6479		
		0.87	13.565
16.278	0.8026		
18.991	0.9172	1.04	10.852
20.3475	0.9993	1.17	8.139
21.704	1.045		
		1.22	6.7825
		1.33	5.426
24.417	1.179	1.4	4.0695
		1.44	2.713
27.13	1.3154		

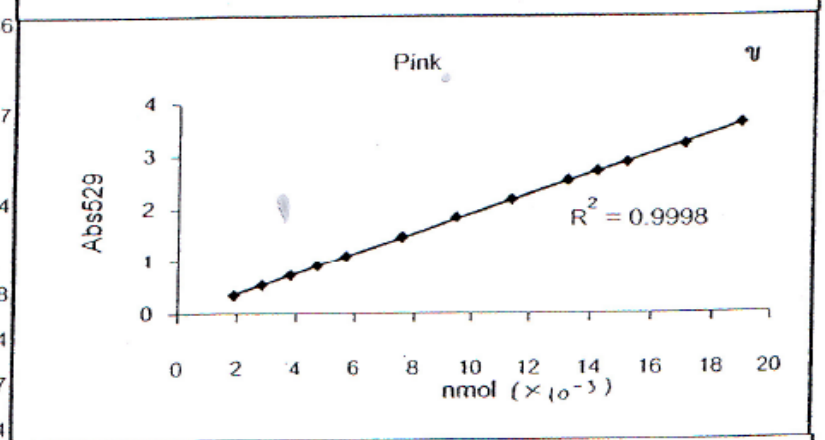


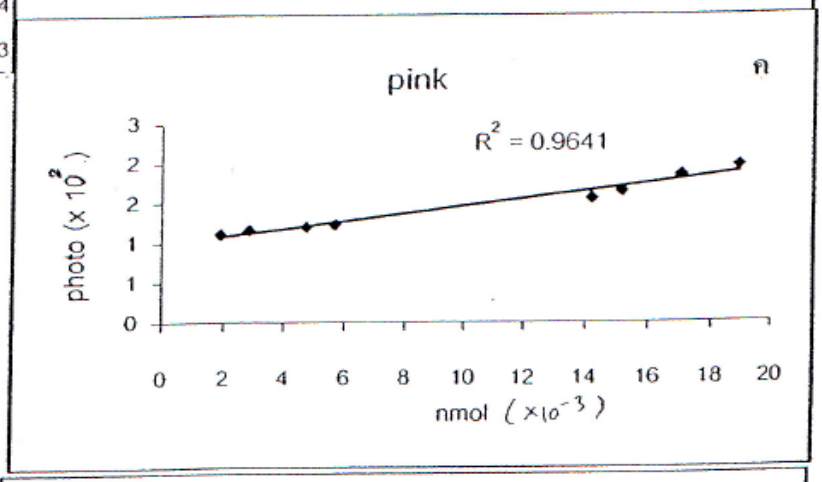
ตารางที่ 3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสีแดงมาตรฐานด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีแดงมาตรฐานที่วิเคราะห์จากภาพถ่าย

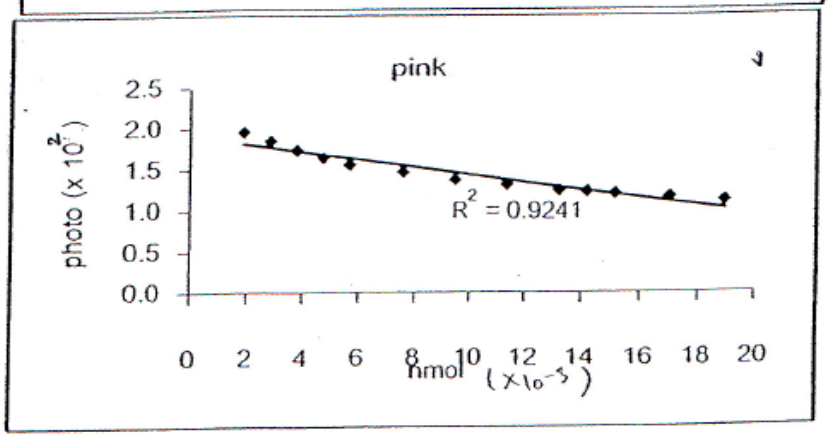
รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าสีแดงวิเคราะห์จากภาพถ่ายดังรูปที่ 1ก (คอลัมน์ ที่ 2 กับ 3) กราฟค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสารดังรูปที่ 1ข (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 2) กราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร ดังรูปที่ 1ค (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 3) และกราฟ ค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสารรูปที่ 1ง (คอลัมน์ ที่ 3 กับ 4)

pink nmol 500 ul ($x10^{-3}$)	Abs510	photo ($x10^{2}$)	Red nmol 500 ul
1.893	0.343	1.1146	18.934
2.84	0.548	1.1642	17.041
3.787	0.732		
4.734	0.91	1.2035	15.147
5.68	1.098	1.2304	14.201
		1.2413	13.254
7.574	1.462		
		1.3084	11.36
9.467	1.83		
		1.3690	9.467
11.36	2.173		
		1.4643	7.574
13.254	2.533		
14.201	2.709	1.5552	5.68
15.147	2.872	1.6404	4.734
		1.7326	3.787
17.041	3.215	1.8477	2.84
18.934	3.612	1.9597	1.893





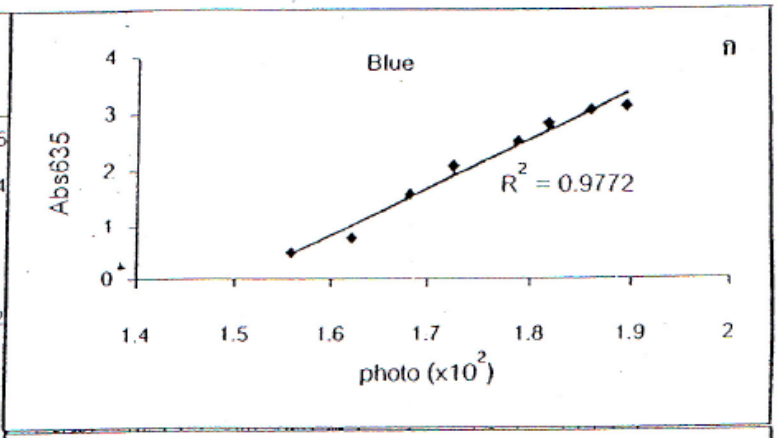


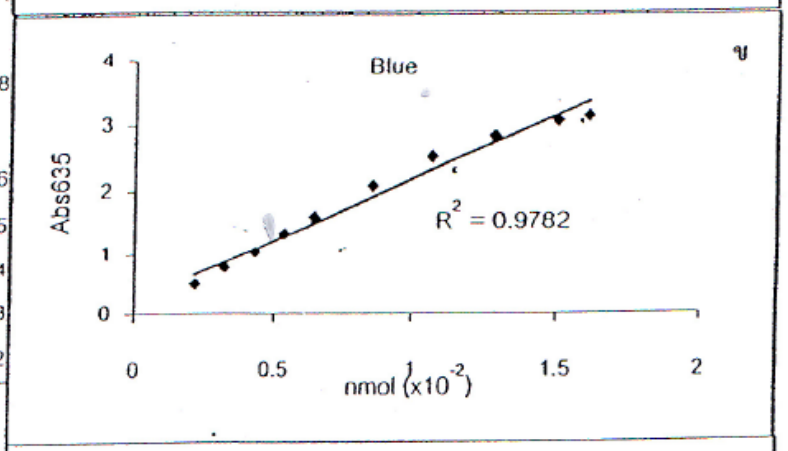


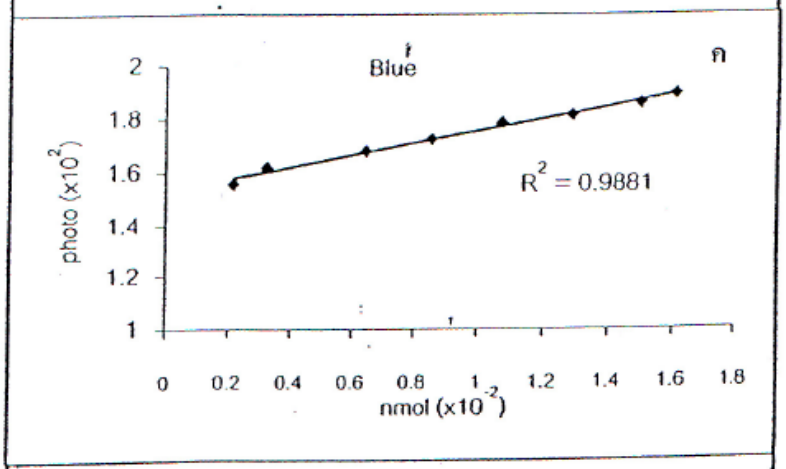
ตารางที่ 4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสีชมพูมาตรฐานด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีชมพูมาตรฐานที่วิเคราะห์จากภาพถ่าย

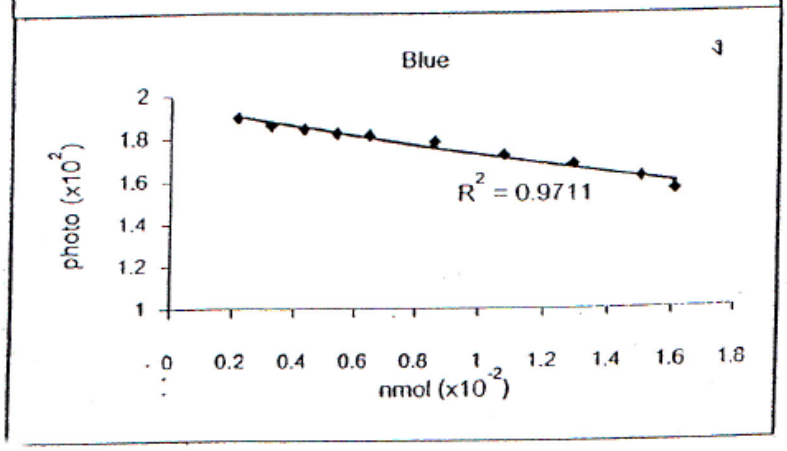
รูปที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าสีชมพูวิเคราะห์จากภาพถ่ายดังรูปที่ 1ก (คอลัมน์ ที่ 2 กับ 3) กราฟค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสารดังรูปที่ 1ข (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 2) กราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร ดังรูปที่ 1ค (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 3) และกราฟ ค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร รูปที่ 1ง (คอลัมน์ ที่ 3 กับ 4)

nmol500ul ($x10^{-2}$)	Abs635	photo ($x10^{2}$)	nmol500ul ($x10^{-2}$)
0.21442	0.483	1.5581	1.60815
0.32163	0.765	1.6209	1.50094
0.42884	1.026		
0.53605	1.324		
0.64326	1.589	1.6815	1.28652
0.85768	2.075	1.7247	1.0721
1.0721	2.515	1.7866	0.85768
1.28652	2.834	1.8154	0.64326
		1.8225	0.53605
		1.8437	0.42884
1.50094	3.068	1.8573	0.32163
1.60815	3.135	1.8928	0.21442









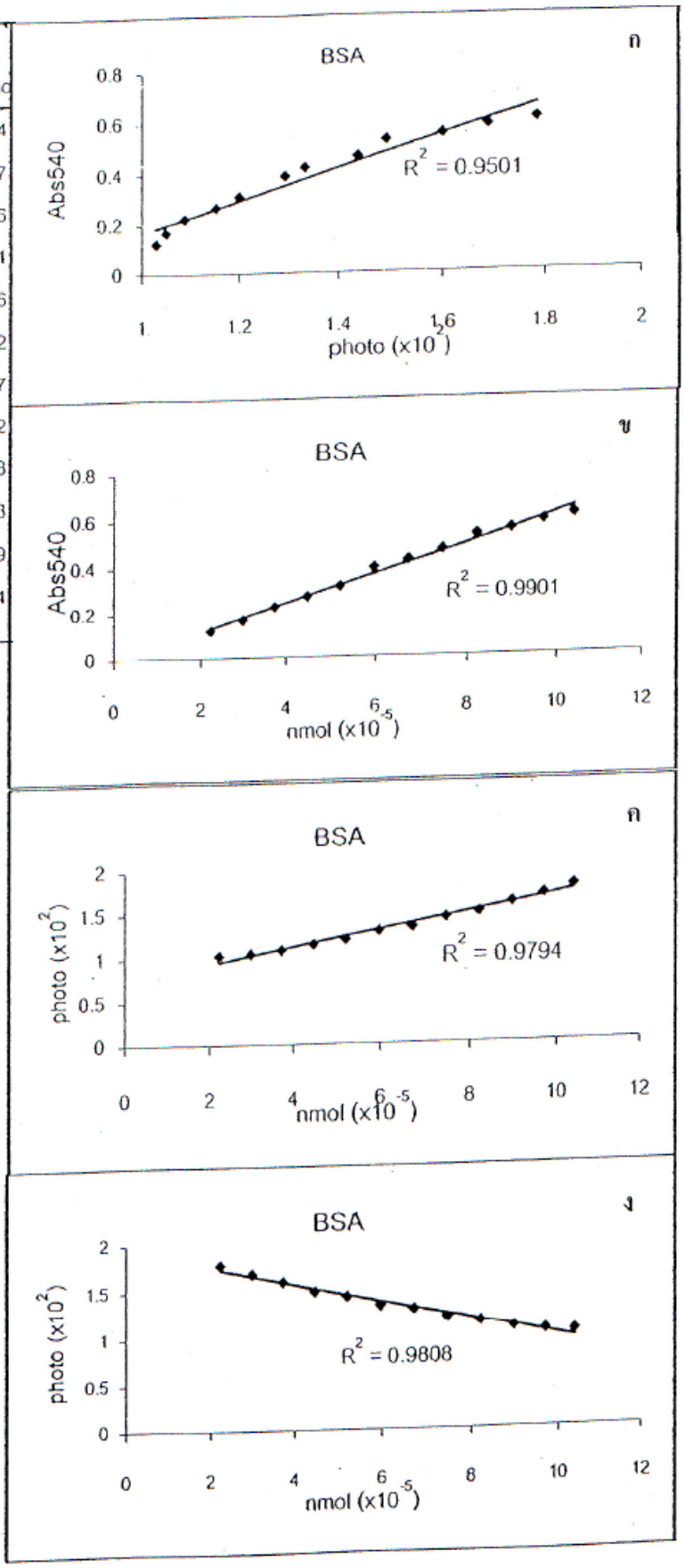
ตารางที่ 5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสีฟ้ามาตรฐานด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีเหลืองมาตรฐานที่วิเคราะห์จากภาพถ่าย

รูปที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าสีฟ้าวิเคราะห์จากภาพถ่ายดังรูปที่ 1ก (คอลัมน์ ที่ 2 กับ 3) กราฟค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสารดังรูปที่ 1ข (คอลัมน์ที่ 1 กับ 2) กราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร ดังรูปที่ 1ค (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 3) และกราฟ ค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร รูปที่ 1ง (คอลัมน์ ที่ 3 กับ 4)

BSA x 10^{-5} mmol	Abs540	photo x10^{2}	BSA x 10^{-5} mmo
2.24	0.122	1.0299	10.4
2.99	0.168	1.0492	9.7
3.73	0.223	1.0872	8.96
4.48	0.268	1.1517	8.21
5.22	0.312	1.1992	7.46
5.97	0.391	1.2931	6.72
6.72	0.424	1.3335	5.97
7.46	0.465	1.4377	5.22
8.21	0.527	1.4929	4.48
8.96	0.549	1.5996	3.73
9.7	0.582	1.6873	2.99
10.4	0.607	1.7829	2.24

ตารางที่ 6แสดงค่าการดูดกลืนแสงของโปรตีนจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีของโปรตีนจากวิธีไบยูเรตที่วิเคราะห์จากภาพถ่าย

รูปที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของโปรตีนกับค่าสีของโปรตีนจากวิธีไบยูเรตที่วิเคราะห์จากภาพถ่ายดังรูปที่ 1ก (คอลัมน์ ที่ 2 กับ 3) กราฟค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสารดังรูปที่ 1ข (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 2) กราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสารดังรูปที่ 1ค (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 3) และกราฟ ค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร รูปที่ 1ง (คอลัมน์ ที่ 3 กับ 4)



นำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 3 มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าสีจากภาพถ่ายดังรูปที่ 2ก (คอลัมน์ ที่ 2 กับ 3) กราฟค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสารดังรูปที่ 2ข (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 2) กราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร ดังรูปที่ 2ค (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 3) และกราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร รูปที่ 2ง (คอลัมน์ ที่ 3 กับ 4) โดยได้ผลลัพธ์ ค่า R^2 เท่ากับ 0.9629, 0.9997, 0.9632, และ 0.9776 ตามลำดับ

3.4 พิจารณาความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสีชมพูวัดได้จากเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าชมพูวิเคราะห์จากภาพถ่าย

จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงของสีชมพูมาตรฐานด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีชมพูมาตรฐานที่วิเคราะห์จากภาพถ่ายได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 4 มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าสีจากภาพถ่ายดังรูปที่ 3ก (คอลัมน์ ที่ 2 กับ 3) กราฟค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสารดังรูปที่ 3ข (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 2) กราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร ดังรูปที่ 3ค (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 3) และกราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร รูปที่ 3ง (คอลัมน์ ที่ 3 กับ 4) โดยได้ผลลัพธ์ ค่า R^2 เท่ากับ 0.9629, 0.9998, 0.9641, และ 0.9241 ตามลำดับ

3.5 พิจารณาความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสีฟ้าวัดได้จากเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีฟ้าวิเคราะห์จากภาพถ่าย

จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงของสีฟ้ามาตรฐานด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีฟ้ามาตรฐานที่วิเคราะห์จากภาพถ่ายได้ผลดังแสดงในตารางที่ 7 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 7 มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าสีจากภาพถ่ายดังรูปที่ 4ก (คอลัมน์ ที่ 2 กับ 3) กราฟค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสารดังรูปที่ 4ข (คอลัมน์ที่ 1 กับ 2) กราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร ดังรูปที่ 4ค (คอลัมน์ ที่1 กับ 3) และกราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร รูปที่ 4ง (คอลัมน์ ที่ 3 กับ 4) โดยได้ผลลัพธ์ ค่า R^2 เท่ากับ 0.9772, 0.9782, 0.9881, และ 0.9711 ตามลำดับ

3.6 พิจารณาความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโปรตีนวัดได้จากเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีของโปรตีนจากวิธีไบยูเรตวิเคราะห์จากภาพถ่าย

จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงของโปรตีนจากวิธีไบยูเรตด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีของโปรตีนที่วิเคราะห์จากภาพถ่ายได้ผลดังแสดงในตารางที่ 6 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 6 มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าสีจากภาพถ่ายดังรูปที่ 5ก (คอลัมน์ ที่2

กับ 3) กราฟค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสารดังรูปที่ 5ข (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 2) กราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร ดังรูปที่ 5ค (คอลัมน์ ที่ 1 กับ 3) และกราฟค่าสีจากภาพถ่ายกับปริมาณเนื้อสาร รูปที่ 5ง (คอลัมน์ ที่ 3 กับ 4) โดยได้ผลลัพธ์ ค่า R^2 เท่ากับ 0.9501, 0.9901, 0.9794, และ 0.9808 ตามลำดับ

4. สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายสีเหลือง สีแดง และสีชมพูพบว่า สีเหลือง สีแดง สีชมพู และสีฟ้า มีค่าการดูดกลื่นแสงสูงสุดที่ 483 510 529 และ 635 นาโนเมตร ตามลำดับ ซึ่งได้ผลสอดคล้องกับรายงานของ[9] คือ สีเหลือง มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดประมาณ 485 นาโนเมตร ที่ pH 7 ส่วนสีแดงมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดประมาณ 505 นาโนเมตร สีชมพู มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดประมาณ 526 นาโนเมตร ที่ pH 7 และสีฟ้ามีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดประมาณ 635 นาโนเมตรที่ pH 7

ความสัมพันธ์ชองค่าสีที่วิเคราะห์จากภาพถ่ายต่อปริมาณของสีของสารสีเหลือง สีแดง สีชมพู และสีฟ้า มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9713 (รูปที่ 1ง) 0.9776 (รูปที่ 2ง) 0 .9241 (รูปที่3ง) 0.9711 (รูปที่ 4ง) ตามลำดับ ปริมาณของสารสีเหลืองอยู่ในช่วง 3.70 นาโนโมล ถึง 37.01 นาโนโมล(ตารางที่ 2) สารสีแดงอยู่ในช่วง 2.71 นาโนโมล ถึง 27.13 นาโนโมล(ตารางที่ 3) สารสีชมพูอยู่ในช่วง 1.89 นาโนโมล ถึง 18.93 นาโนโมล(ตารางที่ 4) และสีฟ้าอยู่ในช่วง 0.021 นาโนโมล ถึง 0.16 นาโนโมล (ตารางที่ 5) ตามลำดับ สารสีฟ้าเกิดจากกลืนแสงในช่วง 580-620 นาโนเมตรในช่วง สีส้ม สารสีชมพูเกิดจากการดูดกลืนแสงในช่วง 500-510 นาโนเมตร ในช่วงสีเขียว ซึ่ง แสดงถึงโฟตอนพลังงานต่ำ[5] เมื่อเทียบกับ การดูดกลืนแสงในช่วงม่วงน้ำเงิน ที่ 420-440 นาโนเมตรของสารสีเหลืองและสารสีแดงที่ดูดกลืนแสงในช่วงน้ำเงินเขียว ที่ 470-500 นาโนเมตร อาจเป็นไปได้ว่าสารที่ดูดกลืนพลังงานจากโฟตอนที่มีค่าพลังงานสูงจะต้องใช้สารในปริมาณที่มากกว่าสารที่ดูดกลืนแสงจากโฟตอนที่พลังงานต่ำ

เมื่อนำผลการทดลองจากตารางที่ 2 ตารางที่ 3 ตารางที่ 4 และ ตารางที่ 5 มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสารของสีเหลือง สีแดง สีชมพู และสีฟ้าได้กราฟดังรูปที่ 1ข รูปที่ 2ข รูปที่ 3ข และ รูปที่ 4ข ตามลำดับ จากกราฟความสัมพันธ์ดังกล่าวจะเห็นได้ว่า กราฟที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นตรง และมีค่า R^2 เข้าใกล้ 1 ทำให้สามารถสรุปได้ว่า ค่าการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับปริมาณสาร นั่นคือสารละลายสีตัวอย่างที่มีปริมาณเนื้อสารมากจะมีการดูดกลืนแสงได้มาก ส่วนสารละลายสีตัวอย่างที่มีปริมาณเนื้อสารสีน้อยจะดูดกลืนแสงได้น้อยเป็นไปตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ด [10] ส่วนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงกับค่าของสีเหลือง สีแดง สีชมพู และ สีฟ้าที่วัดได้จากภาพถ่ายดังรูปที่ 1ก

รูปที่ 2ก รูปที่ 3ก และรูปที่ 4ก มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9841, 0.9629, 0.9629 และ 0.9772 ตามลำดับ ซึ่งเป็นความสัมพันธ์โดยตรงเป็นข้อบ่งชี้ว่าวิธีการวัดการดูดกลืนแสงกับวิธีการวัดค่าของสีจากภาพถ่ายมีความแม่นยำที่เป็นปฏิภาคโดยตรงต่อกันในการทดลองนี้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 1ค รูปที่ 2ค รูปที่ 3ค และรูปที่ 4ค มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9869, 0.9632, 0.9641 และ 0.9881 ตามลำดับ

เมื่อนำวิธีการวิเคราะห์สีจากภาพถ่ายของโปรตีนเตรียมจากจากวิธีไบยูเรตกับการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์พบว่าผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 6 สอดคล้องกับผลการทดลองที่ใช้สารละลายสีผสมอาหาร โดยมีค่า R^2 ระหว่างค่าของการดูดกลืนแสงกับค่าสีที่วิเคราะห์จากภาพถ่ายเท่ากับ 0.9501 (รูปที่ 5ก) ค่าปริมาณของโปรตีนต่อค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.9901 (รูปที่ 5ข) ค่าปริมาณของโปรตีนต่อค่าการวิเคราะห์ค่าสีจากภาพถ่ายเท่ากับ 0.9794 (รูปที่ 5ค) 0.9808 (รูปที่ 5ง) ดังนั้นวิธีการหาปริมาณของสารที่มีสีที่มีการดูดกลืนแสงในช่วง 400 ถึง800 นาโนเมตร โดยวิธีสเปคโตรสโคปีจะสามารถทดแทนได้โดยวิธีการวิเคราะห์สีจากภาพถ่ายโดยมีผลการวิเคราะห์ที่สอดคล้องและสัมพันธ์กันอย่างสูง หลักการวิเคราะห์สีจากภาพถ่ายเป็นกระบวนการจัดการข้อมูลของรูปภาพโดยคอมพิวเตอร์[11] ทำได้โดยการแบ่งรูปภาพในแนวนอนให้เป็นบริเวณที่มีขนาดเล็กที่เป็นองค์ประกอบที่เล็กที่สุดของภาพเรียกว่าพิคเซล (pixel หรือ picture element) ในคอมพิวเตอร์ภาพใดๆ ที่แสดงได้โดยลักษณะดังกล่าวจะเป็นลักษณะกริด (digital grid หรือ bitmap) แต่ละพิคเซลในกริดจะถูกระบุโดยตำแหน่งตัวเลขของแถวในแนวนอนและคอลัมน์ในแนวตั้ง โดยกำหนดให้พิคเซลที่อยู่มุมบนด้านซ้ายสุดของของกริด ตำแหน่งของแถวในแนว นอนเท่ากับศูนย์ และคอลัมน์ในแนวตั้งเท่ากับศูนย์ ระบบการจัดการข้อมูลของรูปภาพโดยคอมพิวเตอร์ในการศึกษาในครั้งนี้ใช้ ระบบสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน (RGB color model) ในระบบนี้[6] สีแสดงในเทอมของปริมาณแสงสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน เช่นสีแดงบริสุทธิ์จะแสดงค่าของ 255/000/000 โดย 255 เป็นค่าสูงสุดของระดับแสงสีแดง โดยไม่มีค่าของแสงสีเขียวแสงสีน้ำเงินเจือปนเลย ดังนั้นค่าแสงสีเขียวคือ 000 เช่นเดียวกับค่าแสงสีน้ำเงินคือ 000 ดังนั้นค่าโดยรวมที่เป็นไปได้สูงสุดในระบบสีนี้คือ 256x256x256 ซึ่งจะเท่ากับ 16.7 ล้านสีโดยค่า 000/000/000 คือสีขาวและค่า 255/255/255 คือค่าสีดำ ในการทดลองนี้จะทำการวัดค่าพิคเซลของภาพที่วัดค่าในช่วง 0 ถึง 255 ของแสงสีเขียว เมื่อกล้องถ่ายภาพจับแสงที่ความยาวคลื่นที่ไม่ได้ถูกดูดกลืนไว้โดยวัตถุทำให้เกิดสีที่ปรากฏบนจอรับภาพหรือสีที่เรามองเห็น ดังนั้นการวัดการดูดกลืนแสงโดยวิธีสเปคโตรสโคปีเป็นการวัดค่าของแสงในความยาวคลื่นที่ถูกสารมีสีดูดกลืนไว้ ส่วนการวัดค่าสีของสาร

โดยการวัดค่าตัวเลขในระบบแสงสีแดง สีเขียว สีน้ำเงินโดยคอมพิวเตอร์เป็นการวัดสีของแสงที่ไม่ถูกดูดกลืนโดยวัตถุที่ตรวจวัด[10]

5. เอกสารอ้างอิง

[1] Albala, Ken, A. 2002. Eating Right in the Renaissance. University of California Press, Berkeley.

[2] Elizabeth, A. G. 1992.Color and Food: In Encyclopedia of Food Science and Technology, edited by Y. H. Hui, vol. 1, John Wiley & Sons, New York.

[3] Allex, G., Albala, k. and Nesthe M. 2007. The Business of Food ; Eueyelopedia Food and Drink Industries. Greenwood Publishing Group, New York.

[4] Daniel, M. M. 1984. Handbook of U.S. Colorants for Foods, Drugs, and Cosmetics, Wiley Inc., New York.

[5] Willard, H. H., Merritt, L. L. Jr., Dean J. A., and Settle F. A. Jr. 1981. Instrumental Methods of Analysis, 6 th ed. Wadsworth, Belmont, CA. Chapters 1, 2, 3, 4 and 7.

[6] Image –Pro Plus 3.0.1997. In Reference Guide., Mediacybernatics, L. P. Silver Spring, Madison.

[7] Oser, B. L. 1965. Hawk' Physiological chemistry,14th ed., McGraw-Hill, New York, p. 179-181.

[8] Ott, L. 1977. An introduction to statistical methods and data analysis. Duxbury Press, Massachusetts.

[9] Burdock, G. A. 1997 A Encyclopedia of food and color additives, CRC Press, Inc. New York, p. 1057-1091.

[10]Robyt, J. F., and White, B. J. 1990. Biochemical Technologies Theory and Practice, Wamland Press, Inc. Prospect Height, Il. Chapter 1, 3 and 7.

[11] Adobe Premiere LE. 1994. In User Guide. Adobe Systems Inc., Mountain View, CA. Chapter 1.