บทที่ 1
บทนำ

1.1 หลักการและเหตุผล

ประเทศไทย มีการเพาะปลูกพืช ผัก และผลไม้นานาชนิด ซึ่งผลผลิตทางการเกษตรบางอย่างเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญ โดยเฉพาะพวกผลไม้เมืองร้อน(Phillis 1999) เช่น มะม่วง กล้วย ทุเรียน มังคุด เงาะ ลำไย เป็นต้น ดังนั้นช่วงเวลาในการเก็บเกี่ยว และระยะเวลาในการเก็บรักษาผลผลิตทางการเกษตรหลังจากเก็บเกี่ยวแล้ว จึงมีความสำคัญยิ่งต่อคุณภาพของผลผลิตดังกล่าว(Andrew 2000) เนื่องจากภายหลังการเก็บเกี่ยวพืช ผัก และผลไม้ยังมีการหายใจอยู่ส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมี ชีวเคมี และกายภาพ โดยเฉพาะทางด้านกายภาพที่เห็นได้ชัดเจน คือ มีการเปลี่ยนแปลงสี(Beatrice 1999)ของผลไม้ในระหว่างที่ผลไม้เปลี่ยนจากดิบเป็นสุก (Peterson 1994) ซึ่งลักษณะปรากฏดังกล่าวสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการเจริญหรืออายุของผลไม้ได้ ดังนั้นจึงมีความสนใจที่จะศึกษาการเปลี่ยนแปลงสี โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบการวิเคราะห์สีของสารละลายสีผสมอาหารมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยวัดค่าสีด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์(Wilard *et al*. 1981) ในช่วงการดูดกลืนแสง 400-800 นาโนเมตร และการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์วิเคราะห์ค่าของสีแสดงเป็นตัวเลขในรูปของค่าสีเขียวในระบบสี สีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน(Image-Pro Plus 3.0 1997) โดยทำการบันทึกภาพสีของสารละลายสีผสมอาหารด้วยกล้องวิดีโอที่เชื่อมต่อกับเครื่องคอมพิวเตอร์วิเคราะห์ผล เพื่อใช้เป็นแนวทางในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีแบบไม่ทำลายผลิตภัณฑ์จากการบด การสกัด และการละลาย เพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษา
วิธีติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายสีผสมอาหารมาตรฐานวัดที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ในช่วงการดูดกลืนแสง 400-800 นาโนเมตร และทำการเปรียบเทียบกับการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์วิเคราะห์ค่าของสีแสดงเป็นตัวเลขในรูปของค่าแสงสีเขียวในระบบแสงสีแดง สีเขียว สีน้ำเงินจากภาพถ่ายของสารละลายสีผสมอาหาร

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการศึกษานี้ คือ

- สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบ หรือติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของผลผลิตทางการเกษตรโดยผลผลิตตัวอย่างที่ใช้ทดสอบไม่ถูกทำลาย

- นำความรู้ที่ได้มาประยุกต์ใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของผลผลิตทางการเกษตรโดยไม่ต้องเสียเวลาเตรียมตัวอย่าง ซึ่งสะดวกต่อการติดตาม หรือหาระยะเวลาการเก็บเกี่ยว และอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการศึกษาหาวิธีการเก็บรักษาและยืดอายุผลิตภัณฑ์ให้คงคุณภาพตามที่ต้องการต่อไป

บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เอกสารที่เกี่ยวข้อง

สีที่ได้รับการรับรองให้ใช้กับอาหารจะเป็นประเภทดาย(dye) หรือ เลค(lake) ดายเป็นสีที่มีแหล่งกำเนิดจากพวกพืช ละลายได้ดีในน้ำใช้เป็นสีผสมในอาหารประเภทอบ เครื่องดื่ม ขนมหวาน ผลิตภัณฑ์นม(Albala 2002) ในขณะที่เลคจะมีส่วนผสมของสารอนินทรีย์ สารอินทรีย์ หรือโลหะบางอย่างอยู่ในองค์ประกอบคงตัวได้ดีกว่า เลคสามารถกระจายตัวได้ดีในน้ำมันใช้กับอาหารที่มีลักษณะของการเคลือบสี ลูกกวาด เค้ก โดนัท(Elizabeth 1992) 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(Albala 1992) การวัดการเปลี่ยนแปลงของสีเป็นการวิเคราะห์คุณภาพที่ทำได้โดยการเทียบกับแผ่นสีมาตรฐาน ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายสะดวกและรวดเร็ว แต่ไม่ครอบคลุมสีทั้งหมด การวัดสีโดยตรงด้วยเครื่องมือวัดสี เป็นการวัดที่มีความแม่นยำสูงแต่ต้องใช้เครื่องมือราคาสูง และในขณะที่การวัดสีจากการวิเคราะห์ทางเคมี เช่น การหาปริมาณของสารที่ก่อให้เกิดสี โดยการวิเคราะห์ทางสเปคโตรสโกปีแม้จะนิยมกันแพร่หลาย แต่การวัดสีด้วยวิธีนี้จะต้องทำการสกัดสารจากตัวอย่าง ซึ่งเป็นการวิเคราะห์แบบทำลายตัวอย่าง(Daniel 1984) ในขณะที่การวิเคราะห์ปริมาณสารสีโดยหลักการวิเคราะห์สีจากภาพถ่ายจะข้ามข้อจำกัดทั้งหลายในวิธีที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.2.1 การวิเคราะห์ทางสเปคโตรสโกปี

โดยปกติสสารสามารถดูดกลืนรังสีหรือแสง ได้แตกต่างกัน ทำให้วัตถุเหล่านั้นมีสีสันแตกต่างกัน ออกไปด้วยนักวิทยาศาสตร์สนใจคุณสมบัติดังกล่าว และนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณ(Dubois 1956) โดยเฉพาะเทคนิคการวิเคราะห์ทางสเปคโตรสโกปี(Willard *et al*. 1984) ซึ่งเป็นการแยก การตรวจสอบ และการบันทึกของพลังงานที่เปลี่ยนไปเกี่ยวกับนิวเคลียส อะตอม ไอออน หรือโมเลกุล พลังงานที่เปลี่ยนไปเกิดจากการแผ่ออกไป การดูดกลืน การกระเจิง ของการแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า หรือของอนุภาค เทคนิคนี้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการวิเคราะห์อย่างกว้างขวางโดยอาศัยการเกิดอันตรกิริยากับสารเหล่านี้ซึ่งเกิดเมื่อให้ลำแสงผ่านเข้าไปยังสารละลาย หรือวัตถุใดวัตถุหนึ่ง จะพบว่า บางส่วนของรังสีนั้นถูกดูดกลืน บางส่วนผ่านทะลุ บางส่วนเกิดการสะท้อนกลับ และบางส่วนเกิดการกระเจิงอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือหลายอย่างพร้อมกัน สเปคโตรสโกปีเป็นวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงหรือรังสีของสารซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190-800 นาโนเมตร ซึ่งเป็นการวัดในช่วงความยาวคลื่นแสงอุลตราไวโอเลตกับวิสิเบิล โดยใช้วัดสารตัวอย่างได้แก่ สารประกอบเชิงซ้อนของสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ ทั้งที่มีสีและไม่มีสี สมบัติการดูดกลืนแสงของสารดังกล่าว สามารถนำมาใช้วิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณอย่างกว้างขวาง เนื่องจากวิธีนี้ให้ความถูกต้องแม่นยำดี และมีความไวต่อการตรวจวัดสูง โดยอาจทำการวิเคราะห์ในรูปของธาตุหรือโมเลกุล(Nelson 1944)

2.2.2 หลักในการหาปริมาณของสารกับปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืน

ในการวัดปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืนด้วยสารตัวอย่าง(Roe 1934) ทำได้โดยให้ลำแสงผ่านเข้าไปในสารตัวอย่าง แล้ววัดปริมาณของแสงที่ผ่านทะลุออกมาโดยเปรียบเทียบกับแสงที่ทะลุออกมาเมื่อไม่มีสารตัวอย่าง และหาปริมาณสารจากการดูดกลืนแสงของสารที่ความยาวคลื่นเหมาะสม และอาศัยกฎของเบียร์และแลมเบิร์ต(Robyt and White 1990)ที่ว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายจะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้น ซึ่งจะเป็นไปตามกฎดังกล่าวหรือไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารที่วัดนั้นต้องอยู่ในช่วงที่เหมาะสมเช่นกัน ดังนั้นความถูกต้องในการวัดค่าการดูดกลืนแสงจะได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น ซึ่งสารนั้นดูดกลืนแสงได้มากที่สุดจึงจะมีความถูกต้อง และแม่นยำมากที่สุด และควรวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น ซึ่งค่าโมล่าแอบซอฟติวิตี้ (molar absorptivity ; $\acute{\varepsilon}$) มีค่าคงที่ ถ้า $\acute{\varepsilon}$ ไม่คงที่จะทำให้เกิดความเบี่ยงเบนไปจากกฎของเบียร์(Robyt and White 1990)

2.2.3 หลักการวิเคราะห์สีจากภาพถ่าย

เป็นกระบวนการที่จัดการข้อมูลของรูปภาพโดยคอมพิวเตอร์(Adobe Premere LE 1994) ทำได้โดยการแบ่งรูปภาพในแนวนอนให้เป็นบริเวณที่มีขนาดเล็กที่เป็นองค์ประกอบที่เล็กที่สุดของภาพเรียกว่าพิคเซล (pixel หรือ picture element) ในคอมพิวเตอร์ภาพใดๆ ที่แสดงได้โดยลักษณะดังกล่าวจะเป็นลักษณะกริด (digital grid หรือ bitmap) แต่ละพิคเซลในกริดจะถูกระบุโดยตำแหน่งตัวเลขของแถวในแนวนอนและคอลัมน์ในแนวตั้ง โดยกำหนดให้พิคเซลที่อยู่มุมบนด้านซ้ายสุดของของกริด ตำแหน่งของแถวในแนวนอนเท่ากับศูนย์ และคอลัมน์ในแนวตั้งเท่ากับศูนย์ ระบบการจัดการข้อมูลของรูปภาพโดยคอมพิวเตอร์ในการศึกษาในครั้งนี้ใช้ ระบบสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน (RGB color model) ในระบบนี้(Image-Pro Plus 3.0 1997) สีแสดงในเทอมของปริมาณแสงสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน เช่นสีแดงบริสุทธ์จะแสดงค่าของ 255/000/000 โดย 255 เป็นค่าสูงสุดของระดับแสงสีแดง โดยไม่มีค่าของแสงสีเขียว แสงสีน้ำเงินเจือปนเลย 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 ส่วนการวัดค่าสีของสารโดยการวัดค่าตัวเลขในระบบแสงสีแดง สีเขียว สีน้ำเงินโดยคอมพิวเตอร์เป็นการวัดสีของแสงที่ไม่ถูกดูดกลืนโดยวัตถุที่ตรวจวัด(Robyt and White 1990)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและวัสดุ

สารสีเหลือง disodium2-hydroxyl-1-(4-sulfonatophenylazo)naphthalene-6-sulfonate สารสีแดง trisodium2-hydroxyl-1-(4-sulfonato-1-nephthylazo)naphthalene-6,8-disulfonate สารสีชมพู disodium2-(2-,4,5,7-tetraiodo-3-oxido-6-oxoxanthen-9-yl)benzoate monohydrate 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

สารละลายเอทธานอล 10%

โปรตีนมาตรฐาน (Bovine Serum Albumin; BSA) จากบริษัท Fluka
แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (absolute alcohol 99%)
คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)
โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรท (Na-K tartrate)
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
โปตัสเซียมไอโอไดด์ (KI)
น้ำกลั่น

3.2 อุปกรณ์

เครื่องแก้ว
เครื่องชั่งสาร ทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น AE-200
เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงสเปคโตรโฟโตมิเตอร์รุ่น UV-1601 ยี่ห้อ Shimadzu
เครื่องคอมพิวเตอร์ที่มีโปรแกรมการใช้งานกับเครื่องสเปคโตโฟโตมิเตอร์รุ่น 1.06H ยี่ห้อ Thunderbird
โปรแกรมถ่ายภาพ Mil
โปรแกรมวัดสี Image-Pro Plus 3.0
โคมไฟเมทัลฮาไลท์
กล้องโซนี่ PC 1
ปิเปตต์ขนาด 100 และ 1000 ไมโครลิตร

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 ศึกษาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายสีเหลือง สีแดง สีชมพู และ สีฟ้า จากสเปคโตรโฟโตมิเตอร์กับค่าสีที่วิเคราะห์จากภาพถ่าย

3.3.1.1 การเตรียมสารละลายสีมาตรฐานนำสีมาตรฐานที่ใช้ในการศึกษา คือ สีเหลือง สีแดง สีฟ้า และสีชมพู ปริมาณ 10 มิลลิกรัม มาละลายในสารละลายเอทธานอลเข้มข้น 10% เก็บไว้ที่ 4 องศาเซนเซียสในที่มืด

3.3.1.2 การหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของสารละลายสีมาตรฐานนำสารละลายสีมาตรฐานที่เตรียมได้จากข้อ 3.1.1 มาสแกนหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของแต่ละสีในช่วง 400-800 นาโนเมตร

3.3.1.3 ศึกษาความสัมพันธ์ของค่าสีที่วัดได้กับปริมาณของสารโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ Mil และ Image Pro Plus 3.0 โดยทำการวิเคราะห์ผลของค่าแสงสีเขียว ในระบบแสงสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน วางตำแหน่งสารที่ต้องการวัดให้อยู่ในหลอดทดลองปริมาตร10 มิลลิลิตร จับยึดไว้บนขาตั้ง สูงจากพื้น 25 เซนติเมตรในระยะห่างจากกล้องถ่ายภาพโซนี่ PC-1 เป็นระยะห่าง 80 เซนติเมตร โดยให้แหล่งกำเนิดแสงมีระยะห่างจากหลอดทดลองเป็นระยะห่าง 60 เซนติเมตรโดยให้แสงมีปริมาณโฟตอนที่คงที่หลังจากทำการปล่อยแสงนาน 10 นาทีผ่านสัญญานภาพของหลอดทดลองจากกล้องถ่ายภาพ โซนี่ PC-1 เข้าสู่คอมพิวเตอร์ โดยแปลงสัญญานภาพผ่านการ์ด Meteor1 จากนั้นคำนวณค่าของสีที่วัดได้

3.3.2 ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณสารสีมาตรฐานที่วัดได้จากสเปคโตรโฟโตมิเตอร์กับการวัดปริมาณของสีจากภาพถ่าย

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

3.3.3 ศึกษาความสัมพันธ์ที่จากการวิเคราะห์หาโปรตีนโดยวิธีไบยูเรต(Oser 1965) ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์กับค่าสีที่วัดจากภาพถ่าย

3.3.3.1 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

3.3.3.2 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

3.4 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

การหาค่าสหสัมพันธ์ของสมการเชิงเส้น(Ott 1977)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของสีมาตรฐาน

จากศึกษาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสีมาตรฐานซึ่งได้แก่ สีเหลือง สีแดง สีชมพู สีฟ้า ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด ของสีมาตรฐาน

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

4.2 ศึกษาความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสีเหลืองวัดได้จากเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีเหลืองวิเคราะห์จากภาพถ่าย

จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงของสีเหลืองมาตรฐานด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีเหลืองมาตรฐานที่วิเคราะห์จากภาพถ่ายได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 4 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

4.3 ศึกษาความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสีแดงวัดได้จากเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีแดงวิเคราะห์จากภาพถ่าย

จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงของสีแดงมาตรฐานด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีแดงมาตรฐานที่วิเคราะห์จากภาพถ่ายได้ผลดังแสดงในตารางที่ 5 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 5 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

4.4 ศึกษาความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสีชมพูวัดได้จากเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าชมพูวิเคราะห์จากภาพถ่าย

จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงของสีชมพูมาตรฐานด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีชมพูมาตรฐานที่วิเคราะห์จากภาพถ่ายได้ผลดังแสดงในตารางที่ 6 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 6 มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าสีจากภาพถ่ายดังรูปที่ 3ก (คอลัมน์ ที่ 2กับ 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

4.5 ศึกษาความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายสีฟ้าวัดได้จากเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีฟ้าวิเคราะห์จากภาพถ่าย

จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงของสีฟ้ามาตรฐานด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีฟ้ามาตรฐานที่วิเคราะห์จากภาพถ่ายได้ผลดังแสดงในตารางที่ 7 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 7 มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าสีจากภาพถ่าย ดังรูปที่ 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

4.6 ศึกษาความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโปรตีนวัดได้จากเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีของโปรตีนจากวิธีไบยูเรตวิเคราะห์จากภาพถ่าย

จากการทดลองวัดค่าการดูดกลืนแสงของโปรตีนจากวิธีไบยูเรตด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และค่าสีของโปรตีนที่วิเคราะห์จากภาพถ่ายได้ผลดังแสดงในตารางที่ 8 และเมื่อนำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 8 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

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองศึกษาหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายสีเหลือง สีแดง และสีชมพูพบว่า สีเหลือง สีแดง สีชมพู และสีฟ้า มีค่าการดูดกลื่นแสงสูงสุดที่ 483 510 529 และ 635 นาโนเมตร ตามลำดับ ซึ่งได้ผลสอดคล้องกับรายงานของ Burdock 1997 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 ปริมาณของสารสารสีเหลืองอยู่ในช่วง 3.70 นาโนโมล ถึง 37.01 นาโนโมล (ตารางที่4) สารสีแดงอยู่ในช่วง 2.71 นาโนโมล ถึง 27.13 นาโนโมล(ตารางที่ 5) สารสีชมพูอยู่ในช่วง 1.89 นาโนโมล ถึง 18.93 นาโนโมล(ตารางที่ 6) และสีฟ้าอยู่ในช่วง 0.021นาโนโมล ถึง 0.16 นาโนโมล (ตารางที่ 7)ตามลำดับ สารสีฟ้าเกิดจากกลืนแสงในช่วง 580-620 นาโนเมตร ในช่วง สีส้ม สารสีชมพู เกิดจากการดูดกลืนแสงในช่วง 500-510 นาโนเมตร ในช่วงสีเขียว ซึ่งแสดงถึงโฟตอนพลังงานต่ำ(Wilard 1981) เมื่อเทียบกับ การดูดกลืนแสงในช่วงม่วงน้ำเงิน ที่ 420-440 นาโนเมตรของสารสีเหลืองและสารสีแดงที่ดูดกลืนแสงในช่วงน้ำเงินเขียว ที่ 470-500 นาโนเมตร อาจเป็นไปได้ว่าสารที่ดูดกลืนพลังงานจากโฟตอนที่มีค่าพลังงานสูงจะต้องใช้สารในปริมาณที่มากกว่าสารที่ดูดกลืนแสงจากโฟตอนที่พลังงานต่ำ

เมื่อนำผลการทดลองจากตารางที่ 4 ตารางที่ 5 ตารางที่ 6 และ ตารางที่ 7 มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณเนื้อสารของสีเหลือง สีแดง สีชมพู และสีฟ้าได้กราฟดังรูปที่ 1ข รูปที่ 2ข รูปที่ 3ข และ รูปที่ 4ข ตามลำดับ จากกราฟความสัมพันธ์ดังกล่าวจะเห็นได้ว่า กราฟที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นตรง และมีค่า R^2 เข้าใกล้ 1 ทำให้สามารถสรุปได้ว่า ค่าการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณสาร นั่นคือ สารละลายสีตัวอย่างที่มีปริมาณเนื้อสารมาก จะมีการดูดกลืนแสงได้มาก ส่วนสารละลายสีตัวอย่างที่มีปริมาณเนื้อสารสีน้อยจะดูดกลืนแสงได้น้อยเป็นไปตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ดRobyt 1990) 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 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่แสดงใน

รูปที่ 1ค รูปที่ 2ค รูปที่ 3ค และรูปที่ 4ค มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9869, 0.9632, 0.9641 และ 0.9881 ตามลำดับ

เมื่อนำวิธีการวิเคราะห์สีจากภาพถ่ายของโปรตีนเตรียมจากจากวิธีไบยูเรตกับการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์พบว่าผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 8สอดคล้องกับผลการทดลองที่ใช้สารละลายสีผสมอาหาร 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

บรรณานุกรม

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

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

Andrew, D. 2000.Dangerous Tastes: The Story of Spices. University of California Press, Berkeley.

Audrey H. Ensminger, M. E. Ensminger, James E. Konlande, and John R. K. Robson. 1994. Coloring of Food: In Foods and Nutrition Encyclopedia, vol. 1, p. 458–461. Boca Raton, Fla.: CRC Press, New York.

Beatrice T. H. 1999. What Are Natural Colors. Consumers' Research 82:8 p. 20–25.

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

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

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances, Anal. Chem. 28:350.

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.

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

Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of Somogyi method for the detection of glucose, J. Biol. Chem. 153: 375-378.

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

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

Peterson, T. S. 1994. Acquired Taste: The French Origins of Modern Cooking. Cornell University Press, Ithaca, N.Y.

Phyllis, P. A. 1999. Arts, Culture, and Cuisine: Ancient and Medieval Gastronomy. University of Chicago Press, Chicago.

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

Roe, J. H. 1934. A colorimetric method for the determination of fructose in blood and urine, J. Biol. Chem. 107: 15.

Watson, R. H. J. 1981.The Importance of Colour in Food Psychology: In Natural Colours for Food and Other Uses, edited by J. N. Counsell, Applied Science Publishers, London. p. 27-37.

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