



3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง (Equipments and Apparatus)

เครื่อง pH Meter Model 28 ของบริษัท Radiometer Copenhagen

เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer Model 635 D ของบริษัท
Varian Techtron พร้อมด้วยเครื่อง Recorder Model 7040 A ของบริษัท Hewlett Packard

เครื่อง SP 200 G Grating Infrared Spectrophotometer ของ
บริษัท Pye Unicam

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง (Chemicals and Reagents)

ชื่อสีย้อม	ได้รับจาก
อะมิโด โรดามีน บี (Amido Rhodamine B)	บริษัทเอ็กซ์ไทย จำกัด
อะมิโด โรดามีน จี (Amido Rhodamine G)	
อะมิโด บลู เอ (Amido Blue A)	
รีมาคริล บลู จี (Remacryl Blue G)	
รีมาคริล เบตโลว์ ๔ ซีแอล (Remacryl Yellow 4 GL)	
ไดอะมีน บริลเลียนท์ ไวโอเล็ต บี (Diamine Brilliant Violet B)	
ลานาเพิล สการ์เลต จี (Lanaperl Scarlet G)	
ลานาเพิล ฟาสท์ เยลโลว์ ซีอาร์ (Lanaperl Fast Yellow GR)	

ชื่อสีย้อม	ได้รับจาก
ลานาเพิล บลู ซี (Lanaperl Blue G) ลานาเพิล เรด บี (Lanaperl Red B) ลานาเพิล บริลเลียนท์ ออเรนจ์ ซี (Lanaperl Brilliant Orange G) ลานาเพิล ฟาสท์ พิงค์ อาร์ (Lanaperl Fast Pink R)	บริษัทเอ็กซ์ไทย จำกัด
คายานอล ไซยานิน กรีน ซี (Kayanol Cyanine Green G) คายานอล ไซยานิน 6 บี (Kayanol Cyanine 6 B) คายานอล ไซยานิน ซี (Kayanol Cyanine G) คริสโซฟิโน ซี (Chrysophinine G) ไตรเรค ฟาสท์ ออเรนจ์ เอส (Direct Fast Orange S)	บริษัทศรีกรุงวัฒนา จำกัด
ดุราซอล เรด 6 บี (Durazol Red 6 B) ดุราซอล บลู บี (Durazol Blue B) ดุราซอล ไวโอเลต อาร์ (Durazol Violet R)	บริษัทอีสต์เอเชียติก (ประเทศไทย) (ICI)
อีริโอ กรีน บี (Erio Green B) อีริโอโครม เรด ซี (Eriochrome Red G) อีริโอโครม ฟลาวิน เอ (Eriochrome Flavine A)	บริษัทคิงแอลเอ็ม จำกัด (CIBA-GEIGY)

ชื่อสีย้อม	ได้รับจาก
เบนโซ สการ์เลต ซีเอส (Benzo Scarlet GS) ซีเรียส เรด 4 บี (Sirius Red 4 B) ไอโซแลน บอร์โด เค-อาร์แอลเอส (Isolan Bordeaux K-RLS)	บริษัทไบเออร์ไทย จำกัด (BAYER)
โรดามีน บี (Rhodamine B) ออรามิน (Auramine) ออเรนจ์ II (Orange II) มาลาไคท์ กรีน (Malachite Green) ออเรนจ์ ซีที (Orange GT)	บริษัทตั้งเข่งฮวด จำกัด
✓ อะมะแรนท (Amaranth) ออเรนจ์ อาร์เอ็น (Orange RN)	กรมวิทยาศาสตร์บริการ
บอร์โด เรด (Bordeaux Red) คองโก เรด (Congo Red) เมทิล ไวโอเลต 6 บี (Methyl Violet 6 B) แนพทอล เบลโลว์ (Naphthol Yellow) แนพทอล กรีน บี (Naphthol Green B) เมทิลีน บลู (Methylene Blue) เมทิล ออเรนจ์ (Methyl Orange)	BDH Chemicals Ltd. BDH Chemicals Ltd. BDH Chemicals Ltd. BDH Chemicals Ltd. BDH Chemicals Ltd. BDH Chemicals Ltd. Fisher Scientific Company

ชื่อสารเคมี	ผู้ผลิต
กรดไฮโดรคลอริก เอ.อาร์ (Hydrochloric acid A.R.) sp.gr.1.18	BDH Chemicals Ltd.
โซเดียมซิเตรต (Sodium Citrate, Laboratory Chemicals)	May & Baker Ltd.
โปแตสเซียมคลอไรด์ เอ.อาร์ (Potassium Chloride A.R.)	BDH Chemicals Ltd.
โปแตสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (Potassium Hydrogen Phthalate . Laboratory Chemicals)	May & Baker Ltd.
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide, Laboratory reagent)	BDH Chemicals Ltd.
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต เอ.อาร์ (Potassium dihydrogen orthophosphate, A.R.)	BDH Chemicals Ltd.
โซเดียมเตตระบอเรต (บอแรกซ์) (Sodium tetraborate or Borax Laboratory Chemicals)	May & Baker Ltd.
ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต เอ.อาร์ (di-Sodium hydrogen orthophosphate, anhydrous, A.R.)	BDH Chemicals Ltd.
โปแตสเซียมโบรไมด์ เอ.อาร์ (Potassium Bromide, A.R.)	Mallinckrodt, Inc.
กรดซัลฟูริก เอ.อาร์ (Sulfuric Acid, A.R)	J.T. Baker Chemical Co.
เอทานอล (Ethanol) commercial grade	กรมสรรพสามิต
อีเทอร์ปิโตรเลียม (Petroleum Ether)	บริษัทสยามวิทยาศาสตร์ จำกัด

ชื่อสารเคมี	ผู้ผลิต
กระดาษโครมาโตกราฟี เบอร์ 1 (Chromatography Paper No.1)	Whatman Ltd.
กระดาษกรอง	บริษัทวิทยาคัรม จำกัด
ไหมพรมขนสัตว์ Grand Wolle (100 % virgin wool) สีขาว	stahlsche Wolle (Germany)

3.3 การศึกษาริธีแยกและคุณสมบัติของสีย้อมด้วยเทคนิคทางเปเปอร์โครมาโตกราฟี

3.3.1 การเตรียมสารละลายสีย้อม

นำสีย้อมแต่ละชนิดประมาณ 2-3 มิลลิกรัม ละลายในน้ำ

1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

3.3.2 การเตรียมสารละลายที่ใช้เป็นวัสดุภาคซึ่งเคลื่อนที่ได้

ในการศึกษาด้วยเทคนิคทางเปเปอร์โครมาโตกราฟีใช้ระบบตัวทำละลาย

12 ชนิด (10,26) คือ

ชนิดที่ 1 สารละลายแอมโมเนียซึ่งเตรียมได้จากการใช้

สารละลายแอมโมเนียเข้มข้น (ความถ่วงจำเพาะ 0.91) 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ละลายน้ำ แล้วทำให้ครบ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ชนิดที่ 2 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ชั้น 2.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร)

ในน้ำ

ชนิดที่ 3 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ชั้น 2 % (น้ำหนัก/ปริมาตร)
ในสารละลายเอทานอล 50 % โดยปริมาตร

ชนิดที่ 4 สารละลายที่ประกอบด้วย 2-เมทิลโพรเพน-1-ออล
(ไอโซปีวทานอล), เอทานอล และน้ำผสมกันในอัตราส่วน 1:2:1 โดยปริมาตร

ชนิดที่ 5 สารละลายที่ประกอบด้วย 1-ปีวทานอล, กรดอะซิติก
เกลเซียล และน้ำผสมกันในอัตราส่วน 20:5:1 โดยปริมาตร

ชนิดที่ 6 สารละลายที่ประกอบด้วย 2-เมทิลโพรเพน-1-ออล
(ไอโซปีวทานอล), เอทานอล และน้ำผสมกันในอัตราส่วน 3:2:2 โดยปริมาตร แล้วนำสาร
ละลายนี้มา 99 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น(ความถ่วงจำเพาะ 0.91)
1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ชนิดที่ 7 สารละลายของฟีนอล 80 กรัมในน้ำ 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ชนิดที่ 8 สารละลายที่ประกอบด้วย 2-ปีวทานอน (เมทิลเอทิลคีโตน ,
อะซีโตน, น้ำ และสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น(ความถ่วงจำเพาะ 0.91) ผสมกันในอัตราส่วน
350:150:150:1 โดยปริมาตร

ชนิดที่ 9 สารละลายที่ประกอบด้วย 2-ปีวทานอน(เมทิลเอทิลคีโตน),
อะซีโตน และน้ำ ผสมกันในอัตราส่วน 7:3:3 โดยปริมาตร

ชนิดที่ 10 สารละลายที่ประกอบด้วยเอทิลอะซีเตต, พิริดีน และน้ำ
ผสมกันในอัตราส่วน 11:5:4 โดยปริมาตร

ชนิดที่ 11 สารละลายไตรโซเดียมซีเตรต 2 % (น้ำหนัก/ปริมาตร)
ในสารละลายแอมโมเนีย 5 % โดยปริมาตร

ชนิดที่ 12 สสารละลายที่ประกอบด้วยน้ำและกรดไฮโดรคลอริก
(ความถ่วงจำเพาะ 1.18) ผสมกันในอัตราส่วน 30.6.5 โดยปริมาตร

3.3.3 ภาชนะที่ใช้ทำโครมาโตกราฟี

ภาชนะที่ใช้ทำโครมาโตกราฟีคือโถแก้วรูปทรงกระบอกใส่ระบบตัวทำ
ละลายชนิดต่าง ๆ ลงไปให้ระดับของตัวทำละลายสูงประมาณ 1 เซนติเมตร ปิดด้วยแผ่นแก้วตั้ง
กึ่งไว้นอนของตัวทำละลายอิมตัว

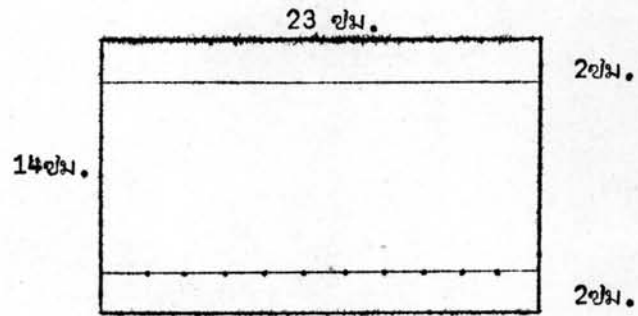
3.3.4 การทำเปเปอร์โครมาโตกราฟีของสีย้อม

การศึกษาเปเปอร์โครมาโตกราฟีของสีย้อมต่าง ๆ ทั้ง 42 ชนิด
ในระบบตัวทำละลายต่าง ๆ 12 ชนิด จะทำโดยใช้กระดาษโครมาโตกราฟีเบอร์ 1 และกระดาษ
กรองธรรมดาซึ่งมีราคาถูกกว่ามากเพื่อเปรียบเทียบผลของการใช้กระดาษทั้งสองด้วย

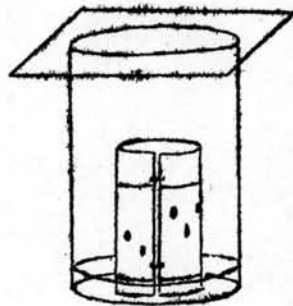
การทำเปเปอร์โครมาโตกราฟีของสีย้อมทำโดยตัดกระดาษโครมาโตกราฟี
เบอร์ 1 และกระดาษกรองธรรมดาให้มีขนาดกว้าง 14 เซนติเมตร ยาว 23 เซนติเมตร ชีดเส้น
ตามด้านยาวของกระดาษให้ห่างจากขอบกระดาษ 2 เซนติเมตรด้วยดินสอสีแดงแสดงในรูปที่ 4
หยดสารละลายสีย้อมชนิดต่าง ๆ ลงบนเส้นนี้ด้วยหลอดคาปิลารีโดยให้แต่ละหยดห่างกัน 2 เซนติเมตร
และหยดสารละลายสีย้อมที่จุดเดิมหลาย ๆ ครั้ง เพื่อให้ปริมาณของสีย้อมในแต่ละหยดมากเพียงพอและ
เมื่อหยดสีย้อมแต่ละครั้งจะต้องทำให้แห้งก่อนหยดครั้งต่อไป เมื่อหยดของสีย้อมแห้งดีแล้วม้วนกระดาษ
ให้เป็นรูปทรงกระบอก เย็บด้านข้างเข้าด้วยกันด้วยที่เย็บกระดาษ (stapler) โดยไม่ให้กระดาษ
ซ้อนกัน (ดังแสดงในรูปที่ 5) ใส่กระดาษลงในภาชนะบรรจุระบบตัวทำละลายต่าง ๆ ที่เตรียมไว้
ตัวทำละลายจะเคลื่อนที่ขึ้นไปบนกระดาษหลังจากที่แนวตัวทำละลายเคลื่อนที่ไปได้ 10 เซนติเมตร
เอากระดาษออกมาขีดแนวตัวทำละลายไว้ ทำให้แห้ง แล้ววงรอบจุดสีบนโครมาโตแกรม คำนวณ
ค่า R_F ของสีย้อมแต่ละชนิดจาก

$$R_F = \frac{\text{ระยะทางจากจุดตั้งต้นถึงจุดที่กกลางของสี}}{\text{ระยะทางที่ระบบตัวทำละลายเคลื่อนที่}}$$

ผลของค่า R_F ของสีย้อมแต่ละชนิดในระบบตัวทำละลายต่าง ๆ กันแสดงในตารางที่ 4



รูปที่ 4 แสดงการเตรียมกระดาษที่ใช้ในการทำโครมาโตกราฟี



รูปที่ 5 แสดงการทำเปเปอร์โครมาโตกราฟี

3.4 การศึกษาคุณสมบัติของสีย้อมด้วยเทคนิคทางวิลิเอลส์เปกโตรโฟโตเมตรี

ในการทดลองนี้ได้ศึกษาคุณสมบัติของสีย้อมต่าง ๆ ในการดูดกลืนแสงในช่วงวิลิเอลซึ่งจะเป็นคุณสมบัติเฉพาะตัวของสีย้อมแต่ละชนิด นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลของ pH ที่ผิดต่อการดูดกลืนแสงโดยการบันทึกสเปกตรารของสารละลายที่มี pH ประมาณ 1, 3, 5, 7, 9, 11 และ 13 เพื่อพิจารณาว่าเมื่อ pH เปลี่ยนแปลงความยาวคลื่นที่แสง ถูกดูดกลืนมากที่สุดและค่า absorbance จะเปลี่ยนแปลงหรือไม่อย่างไร

3.4.1 การเตรียมสารละลายสีย้อมตั้งต้น (Stock solution of dye)

เตรียมสารละลายสีย้อมเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยใช้สีย้อม 50 มิลลิกรัมละลายในน้ำ (deionized water) 100 ลูกบาศก์เซนติเมตรในขวดวัดปริมาตร (volumetric flask)

3.4.2 การเตรียมสารละลายสีย้อมในบัฟเฟอร์ pH ต่าง ๆ

เตรียมสารละลายสีย้อมเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ที่มี pH ต่าง ๆ กัน โดยใช้สารละลายสีย้อมตั้งต้น 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ชนิดต่าง ๆ ⁽⁶²⁾ ดังนี้

pH 1 สารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์เข้มข้น

0.2 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร 12.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

0.2 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร 33.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร

pH 3 สารละลายโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น

0.1 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร 25.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

0.1 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร 11.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร

pH 5 สารละลายโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น

0.1 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร 25.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร และ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

เข้มข้น 0.1 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร 11.3 ลูกบาศก์เซนติเมตร

pH 7 สารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น
0.1 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร 25.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
เข้มข้น 0.1 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร 14.55 ลูกบาศก์เซนติเมตร

pH 9 สารละลายบอแรกซ์เข้มข้น 0.025 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร
25 ลูกบาศก์เซนติเมตร และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร 2.3
ลูกบาศก์เซนติเมตร

pH 11 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น
0.05 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร 25.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
เข้มข้น 0.1 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร 2.05 ลูกบาศก์เซนติเมตร

pH 13 สารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์เข้มข้น
0.2 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร 12.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
เข้มข้น 0.2 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร 33.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร
แล้วเติมน้ำจนครบ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำสารละลายที่ย้อมที่ได้ไปวัด pH ด้วย pH Meter

3.4.3 การบันทึกวิธีเป็ลล์เปกตรา

นำสารละลายที่ย้อมที่ pH ต่าง ๆ กันไปบันทึกเปกตราในช่วง
วิธีเป็ลล์ที่ขั้วสารละลายฟลูออรีนที่ pH เดียวกัน โดยใช้เซลล์ขนาด 10 มิลลิเมตร ความ
กว้างของ slit (slit width) เป็น 1 นาโนเมตร สเปกตราก็ได้แสดงในรูปที่ 7-48

3.5 การศึกษาคุณสมบัติของสีย้อมด้วยเทคนิคทางอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตเมตรี

นำสีย้อมที่เป็นผงผสมกับโปแตสเซียมโบรไมด์ที่อบให้แห้งแล้วที่อุณหภูมิ
105-110 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนที่เหมาะสม บดให้ละเอียด แล้วใส่ของผสมที่ได้ลงใน
ในเครื่องอัด pellet เพื่ออัดให้เป็นแผ่นบางและใส่ด้วยความดัน 15,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

นำ pellet ที่ได้ออกมาวางใน sample holder แล้วนำไปบันทึกอินฟราเรดสเปกตรัมในช่วง 4000-650 เซนติเมตร⁻¹ สเปกตรัมที่ได้แสดงในรูปที่ 49-90

3.6 การศึกษาปฏิกิริยาเคมีของสีย้อม (4,63)

3.6.1 ปฏิกิริยาเคมีของสารละลายสีย้อมในน้ำ

ใช้สารละลายสีย้อมในน้ำเข้มข้น 0.01 % (น้ำหนัก/ปริมาตร)

2 ลูกบาศก์เซนติเมตรใส่ในหลอดทดลอง หยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ทีละหยด บันทึกการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 7

3.6.2 ปฏิกิริยาเคมีของสีย้อมที่เป็นผงกับกรดซัลฟูริก

ใช้สีย้อมที่เป็นผงใส่ในชามกระเบื้อง หยดกรดซัลฟูริกเข้มข้น 3-4 หยดลงไปแล้ว บันทึกการเปลี่ยนแปลงสี ต่อจากนั้นทำให้เจือจางโดยเติมน้ำ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร บันทึกการเปลี่ยนแปลงสี ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 7

3.6.3 ปฏิกิริยาเคมีของสีย้อมบนขนสัตว์ย้อมสี (dyed wool)

3.6.3.1 การทำให้ไหมพรมขนสัตว์บริสุทธิ์^(10,26)

นำไหมพรมขนสัตว์มาตัดให้ยาว เส้นละประมาณ 20 เซนติเมตร แล้วนำมาทำให้บริสุทธิ์ โดยต้มในโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง (0.01 โมล/ลูกบาศก์เดซิเมตร) แล้วต้มในน้ำอีกครั้งหนึ่ง

3.6.3.2 การย้อมไหมพรมขนสัตว์ด้วยสีย้อม

ใช้สารละลายสีย้อมเข้มข้น 0.01 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) เติมกรดอะซิติก 1 % โดยปริมาตร จนเป็นกรด (สำหรับสีแอซิด, สีมอร์แดนท์ และสีไโดเรคบางชนิด) หรือเติมสารละลายแอมโมเนีย 1 % โดยปริมาตร จนเป็นด่าง

(สำหรับสีเบสิกและสีโตเรคบางชนิด) ใส่โหมพรมขนสัตว์ที่ทำให้บริสุทธิ์แล้วลงไป แล้วตั้งบน water bath เมื่อสีย้อมติดโหมพรมขนสัตว์แล้ว นำโหมพรมขนสัตว์มาล้างด้วยน้ำหลาย ๆ ครั้ง เพื่อนำไปทดลองกับสสารเคมีต่าง ๆ ต่อไป

3.6.3.3 ปฏิกิริยาเคมีของโหมพรมขนสัตว์ย้อมสีกับสสารเคมีบางชนิด

ทำให้โหมพรมขนสัตว์ที่ย้อมสีเปียกด้วยน้ำ เพื่อไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากถูกความชื้นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีเนื่องจากปฏิกิริยาเคมีผิดไป สัตโหมพรมขนสัตว์เป็นชิ้นเล็ก ๆ วางบนจานหลุมกระเบื้อง หยดสสารเคมีคือ กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น กรดซัลฟูริกเข้มข้น สสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) และแอมโมเนีย (ความถ่วงจำเพาะ 0.91) ลงบนโหมพรมขนสัตว์ที่ย้อมสี หลังจากนั้นประมาณ 30 วินาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้น ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 8

3.7 การตรวจวิเคราะห์สีย้อมที่ผสมในตัวอย่างอาหาร (10,26)

ในการวิจัยนี้ได้เก็บตัวอย่างอาหารที่มีสี ทั้งอาหารคาวและหวาน มาทำการตรวจวิเคราะห์เพื่อให้ทราบว่าสีที่ใช้ผสมในอาหารเหล่านั้นเป็นสีอะไร ใช้สีย้อมที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคหรือไม่ การตรวจวิเคราะห์สีย้อมที่ผสมในตัวอย่างอาหารนี้ทำโดยอาศัยการแยกแล้วดูคุณสมบัติของสีย้อมด้วยเทคนิคต่าง ๆ ที่ทำการศึกษามาแล้วข้างต้น

วิธีวิเคราะห์สีย้อมที่ผสมในอาหารมี 3 ขั้นตอน คือ สกัดสีออกจากอาหาร ทำสีที่ได้ให้บริสุทธิ์ และตรวจวิเคราะห์สีที่ทำให้บริสุทธิ์แล้ว

3.7.1 วิธีสกัดสีที่ละลายน้ำได้ออกจากอาหาร (10,26)

3.7.1.1 อาหารและเครื่องดื่มที่เป็นของเหลว เช่น น้ำหวาน สามารถนำไปทดลองได้โดยตรง

3.7.1.2 อาหารที่ละลายน้ำได้ดี เช่น ทอฟฟี่ ช็อค คุกกี้ ใช้น้ำละลายอาหารเหล่านี้จนได้สารละลายสีเข้ม กรองสารละลายสีเก็บไว้

3.7.1.3 อาหารที่ไม่ละลายน้ำ เช่น อาหารประเภทแป้ง และอาหารที่มีไขมันสูง ซึ่งได้แก่ขนมชนิดต่าง ๆ และอาหารคาวต่าง ๆ ใช้สารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 2 % ในเอทานอล 70 % โดยปริมาตร (ในกรณีที่มีสีแอสิต) หรือสารละลายกรดอะซิติก 2 % ในเอทานอล 70 % โดยปริมาตร (ในกรณีที่มีสีเบสิก) ใส่ในอาหาร สี่ในอาหารจะละลายออกมา ตั้งทิ้งไว้จนได้สารละลายสีเข้มแล้วกรองสารละลายสี ในกรณีที่อาหารไม่มีไขมันเอาสารละลายสีที่ได้ไปตั้งบน water bath เพื่อให้เอทานอลระเหยออกไปหมด สำหรับอาหารที่มีไขมันต้องนำสารละลายสีที่ได้ไปสกัดไขมันออกให้หมดโดยใช้ไซโตรลีสัมอีเทอร์ แล้วจึงนำไปตั้งบน water bath. เพื่อระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ออกให้หมด เก็บสารละลายสีที่ได้ไว้

3.7.2 การทำสารละลายสีให้บริสุทธิ์โดยการย้อมด้วยไหมพรมขนสัตว์

นำสารละลายสีมาทำให้เป็นกรดด้วยกรดอะซิติก 1 % โดยปริมาตร (ในกรณีที่มีสีแอสิต) หรือทำให้เป็นด่างด้วยสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 1 % โดยปริมาตร (ในกรณีที่มีสีเบสิก) ใส่ไหมพรมขนสัตว์ที่ทำให้บริสุทธิ์แล้วลงไป ตั้งบน water bath จนสีย้อมติดไหมพรมหมดหรือเกือบหมด ล้างไหมพรมด้วยน้ำหลายๆ ครั้งเพื่อให้สีอื่น ๆ และสีที่ติดอยู่บนไหมพรมหลุดออกไป บีบไหมพรมให้แห้งใส่ในปีกเกอร์เติมสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 1 % โดยปริมาตร (ถ้าย้อมติดในสารละลายสีที่เป็นกรด) หรือกรดอะซิติก 1 % โดยปริมาตร (ถ้าย้อมติดในสารละลายสีที่เป็นด่าง) ลงไปเล็กน้อย นำไปตั้งบน water bath สีย้อมจะละลายออกมา ระเหยสารละลายสีที่ได้จนเกือบแห้ง เก็บไว้ทำการวิเคราะห์ต่อไป

3.7.3 การตรวจวิเคราะห์หีสัย้อม

การตรวจวิเคราะห์หีสัย้อมที่สกัดได้จากอาหารมี 3 วิธี คือ

3.7.3.1 ใช้เทคนิคทางเปเปอร์โครมาโตกราฟี

นำสารละลายสีที่เก็บไว้ส่วนหนึ่งมาทำให้เข้มข้นแล้วหยด

สารละลายสีลงบนกระดาษโครมาโตกราฟีและกระดาษกรองธรรมดา แล้วทำโครมาโตกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม ถ้าสีที่ผสมในตัวอย่างอาหารเป็นสีเดียว หาค่า R_F ของสีนั้น แล้วเปรียบเทียบกับค่า R_F กับค่า R_F ของสีย้อมมาตรฐาน (ตารางที่ 4) แต่เนื่องจากค่า R_F ขึ้นกับสภาวะในการทำโครมาโตกราฟีจึงต้องทำเปเปอร์โครมาโตกราฟีของสีย้อมในตัวอย่างอาหารเปรียบเทียบกับสีย้อมมาตรฐานที่ส่งสัยพร้อม ๆ กันอีกครั้งหนึ่ง โดยหยดสีย้อมจากตัวอย่างอาหารกับสีย้อมมาตรฐานที่ส่งสัยลงบนกระดาษแผ่นเดียวกันแล้วทำโครมาโตกราฟีในระบบตัวทำละลายอย่างน้อย 2 ชนิด ถ้าเป็นสีเดียวกันค่า R_F ของสีย้อมจากตัวอย่างอาหารกับสีย้อมมาตรฐานที่ส่งสัยจะมีค่าเท่ากันในทุกระบบตัวทำละลาย

ในกรณีที่มีสีที่ผสมในตัวอย่างอาหารเป็นสีผสม ต้องแยกสีแต่ละชนิดออกจากกันโดยตัดกระดาษที่มีสีแต่ละชนิดออก ล้างสีที่ติดกระดาษด้วยน้ำฟอสฟอรัสที่ได้อธิบายไว้ อีกครั้งหนึ่ง ซึ่งจะช่วยให้ผลการวิเคราะห์ได้แม่นยำและถูกต้องดี

ในบางกรณีสีที่ผสมกันอยู่ไม่เกิดปฏิกิริยาต่อกัน จะสามารถวิเคราะห์สีแต่ละชนิดโดยเปรียบเทียบค่า R_F ของสีในตัวอย่างอาหารกับค่า R_F ของสีย้อมมาตรฐานที่ส่งสัยว่าจะเป็นสีเดียวกันโดยทำเปเปอร์โครมาโตกราฟีบนกระดาษแผ่นเดียวกันได้เลย โดยไม่ต้องแยกสีแต่ละชนิดออกจากกัน

3.7.3.2 ใช้เทคนิคทางวิธีเฮลล์เปกโตรโฟโตเมตรี

เตรียมสารละลายสีย้อมที่ได้จากอาหารในบัฟเฟอร์ pH ที่เหมาะสมแล้วนำไปบันทึกวิธีเฮลล์เปกโตรเมตรี หากความยาวคลื่นที่สีย้อมดูดกลืนแสงได้ดี แล้วเปรียบเทียบรูปร่างของสเปกตรัมที่ได้ และความยาวคลื่นที่สีย้อมดูดกลืนแสงได้ดีกับสเปกตรัมของสีย้อมมาตรฐาน (รูปที่ 7-48 และตารางที่ 5) ถ้าเป็นสีเดียวก็จะสามารถบอกได้ว่า เป็นสีอะไร แต่ถ้าเป็นสีผสมและโดยเฉพาะเกิดปฏิกิริยาด้วยแล้วจะทำให้ได้รูปร่างของสเปกตรัมผิดไปจำเป็นจะต้องแยกออกจากกันเสียก่อน ซึ่งจะเปรียบเทียบสเปกตรัมได้

3.7.3.3 การทดสอบด้วยปฏิกิริยาเคมี

นำสารละลายสีย้อมที่แยกได้จากตัวอย่างอาหารแบ่งเป็น 3 ส่วน

ส่วนที่ 1 ทดสอบปฏิกิริยาเคมีของสารละลายสีย้อม กับ กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) เปรียบเทียบผลกับตารางที่ 7

ส่วนที่ 2 นำไปประเหยบน water bath จนแห้ง สังเกตสีของสีย้อมที่เป็นผง หยดกรดซัลฟูริกเข้มข้นลงไปสังเกตการเปลี่ยนสี แล้วทำให้เสื่อจาง โดยการเติมน้ำ สังเกตการเปลี่ยนแปลงสี เปรียบเทียบผลของปฏิกิริยากับตารางที่ 7

ส่วนที่ 3 นำมาทำให้เป็นกรดด้วยกรดอะซิติก 1 % โดยปริมาตร หรือทำให้เป็นด่างด้วยสารละลายแอมโมเนีย 1 % โดยปริมาตร ใช้ไหมพรมขนสัตว์ ที่ทำให้บริสุทธิ์ย้อมสีจนหมด ล้างไหมพรมด้วยน้ำหลาย ๆ ครั้ง บีบให้แห้ง แล้วนำไหมพรมขนสัตว์ ที่ย้อมสีไปทดสอบปฏิกิริยาเคมีกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น กรดซัลฟูริกเข้มข้น สารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) สารละลายแอมโมเนียเข้มข้น (ความถ่วง จาเพาะ 0.91) บมจานหลุมกระเบื้อง ดูการเปลี่ยนแปลงสีเปรียบเทียบกับตารางที่ 8

จากการตรวจสอบโดยวิธีทั้ง 3 วิธีนี้ จะสามารถวิเคราะห์ ได้ว่าสีย้อมที่ผสมในตัวอย่างอาหารนั้นเป็นสีใด

3.8 การตรวจวิเคราะห์สีบรรจุของที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด

เนื่องจากมีผู้ใช้สีบรรจุของขนาดเล็กที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด ซึ่งเรียกกันว่า สีเยอรมัน (Germany Colors) มาใช้ผสมในอาหารกันมาก ในการวิจัยนี้จึงได้เก็บตัวอย่าง สีบรรจุของเหล่านี้มาทำการวิเคราะห์เพื่อให้ทราบว่าสีเหล่านี้เป็นสีที่รับประทานได้หรือไม่

สีบรจุช่องที่มีจำหน่ายทั่วไปอยู่ในลักษณะที่เป็นของแข็งดังนั้นจึงทำการวิเคราะห์
ได้โดยวิธีวิเคราะห์สีบรจุช่องทำได้ดังนี้

3.8.1 ใช้เทคนิคทางเปเปอร์โครมาโตกราฟี

นำสีบรจุช่องเล็กน้อยละลายในน้ำ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วหยด
บนกระดาษโครมาโตกราฟีเบอร์ 1 และกระดาษกรองธรรมดา แล้วทำโครมาโตกราฟี โดยใช้
ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมอย่างน้อย 2 ชนิด เปรียบเทียบค่า R_F ของสีตัวอย่างกับค่า R_F
ของสีย้อมมาตรฐานที่ทำเปเปอร์โครมาโตกราฟีบนกระดาษแผ่นเดียวกัน ถ้าเป็นสีเดียวกันค่า R_F
ของสีตัวอย่างกับสีย้อมมาตรฐานที่ส่งสัยจะมีค่าเท่ากันในทุกๆระบบตัวทำละลาย

3.8.2 ใช้เทคนิคทางวิลิเบิลส์เปกโตรโฟโตเมตรี

เตรียมสารละลายของสีบรจุช่องในบัฟเฟอร์ pH ที่เหมาะสม แล้วนำ
ไปบันทึกสเปกตรัมในช่วงวิลิเบิล หาความยาวคลื่นที่สีตัวอย่างดูดกลืนแสงได้ดี แล้วเปรียบเทียบกับ
รูปร่างของสเปกตรัมที่ได้และความยาวคลื่นที่สีตัวอย่างดูดกลืนแสงได้ดี กับสเปกตรัมของสีย้อม
มาตรฐาน (รูปที่ 7-48 และตารางที่ 5)

3.8.3 การทดสอบด้วยปฏิกิริยาเคมี

3.8.3.1 ทดสอบปฏิกิริยาเคมีของสารละลายสีตัวอย่างในน้ำ

ใช้สีบรจุช่องเล็กน้อยละลายในน้ำ 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร
สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเมื่อหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น และสารละลาย
โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) เปรียบเทียบผลที่สังเกตได้กับตารางที่ 7

3.8.3.2 ทดสอบปฏิกิริยาเคมีของสีตัวอย่างที่เป็นผงกับกรดซัลฟริก

นำสีบรจุช่องเล็กน้อยใส่ในขามกระเบื้อง หยดกรด

ซัลฟูริกเข้มข้น 3-4 หยด สังเกตการเปลี่ยนแปลงสี เติมน้ำ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตรลงไป
สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีเทียบกับตารางที่ 7

3.8.3.3 ทดสอบปฏิกิริยาเคมีของสีตัวอย่างที่ย้อมบนไหมพรมขนสัตว์

ละลายสีตัวอย่างเล็กน้อยในน้ำ เติมกรดอะซิติก 1 %
(โดยปริมาตร) จนเป็นกรด หรือเติมสารละลายแอมโมเนีย 1 % โดยปริมาตร จนเป็นด่าง
แล้วใส่ไหมพรมขนสัตว์ที่ได้ทำให้บริสุทธิ์แล้วลงไป ตั้งบน water bath จนสีย้อมติดไหมพรม
ขนสัตว์ นำไหมพรมขนสัตว์มาล้างด้วยน้ำหลาย ๆ ครั้ง ตัดไหมพรมเป็นชิ้นเล็ก ๆ วางบน
จานหลุมกระเบื้อง สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อหยดสารเคมีต่าง ๆ คือ กรดไฮโดรคลอริก
เข้มข้น กรดซัลฟูริกเข้มข้น สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 % (น้ำหนัก/ปริมาตร)
และสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น (ความถ่วงจำเพาะ 0.91) เปรียบเทียบผลการทดลองกับ
ตารางที่ 8

3.9 การตรวจวิเคราะห์สีย้อมที่ผลึมนิปลัสติก

3.9.1 การสกัดสีออกจากนิปลัสติก

ใช้นิปลัสติกประมาณ 0.5 กรัม ละลายในเอทานอลผลึมน้ำ นำไปให้
ความร้อนบน water bath จนสีละลายออกมาหมดหรือเกือบหมด ตั้งทิ้งไว้ให้เป็น กรองและ
เก็บสารละลายไว้ แล้วนำไปสกัดไขมันออกโดยใช้ไซโตรเลียมอีเทอร์ เก็บสารละลายสีที่ได้ไว้
ทำการวิเคราะห์ต่อไป

3.9.2 การตรวจวิเคราะห์สีย้อม

3.9.2.1 ใช้เทคนิคทางเปเปอร์โครมาโตกราฟี

นำสารละลายสีส่วนหนึ่งมาทำให้เข้มข้นแล้วหยดบน
กระดาษโครมาโตกราฟีเบอร์ 1 และกระดาษกรองธรรมดา แล้วทำโครมาโตกราฟี โดย

ใช้ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมอย่างน้อย 2 ชนิด เปรียบเทียบค่า R_f ของสีจากลิปสติกกับค่า R_f ของสีย้อมมาตรฐานที่ทำเปเปอร์โครมาโตกราฟีบนกระดาษแผ่นเดียวกัน ถ้าเป็นสีเดียวกันค่า R_f ของสีจากลิปสติกกับสีย้อมมาตรฐานที่สงสัยจะมีค่าเท่ากันในทุกระบบตัวทำละลาย

3.9.2.2 ใช้เทคนิคทางวิธีเป็ลล์เปกโตรโฟโตเมตริ์

เตรียมสารละลายสีที่ได้จากลิปสติกในบัฟเฟอร์ pH ที่เหมาะสมแล้วนำไปบันทึกวิธีเป็ลล์เปกโตรริ์ หากความยาวคลื่นที่สีย้อมดูดกลืนแสงได้ดี แล้วเปรียบเทียบรูปร่างของสเปกโตรริ์ที่ได้และความยาวคลื่นที่สีย้อมดูดกลืนแสงได้ดีกับสเปกโตรริ์ของสีย้อมมาตรฐาน (รูปที่ 7-48 และตารางที่ 5)